

THÈSE DE DOCTORAT D'ÉTAT ÈS SCIENCES NATURELLES

présentée à

LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

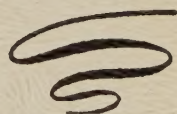
par

PIERRE FOULHOX

pour obtenir

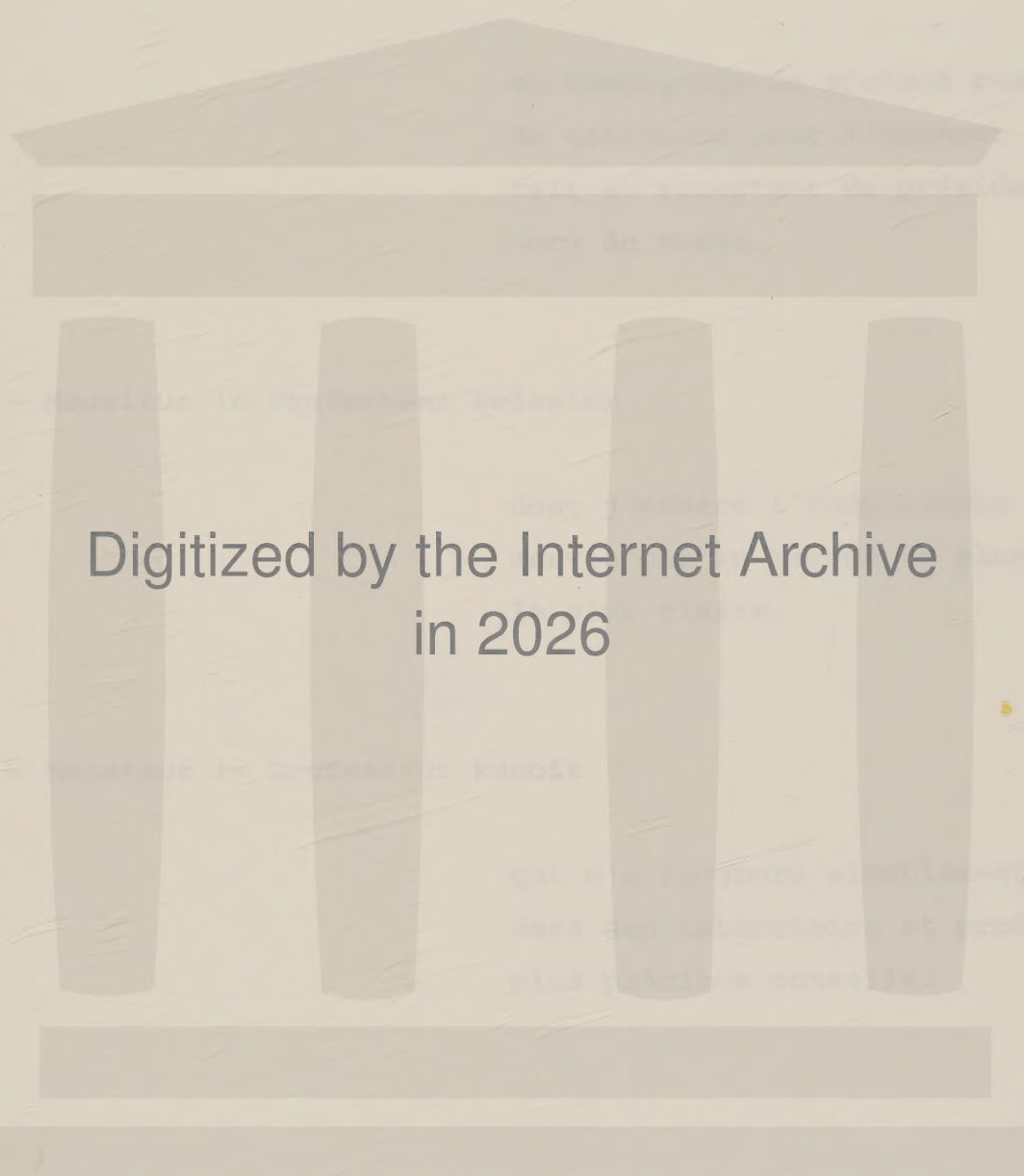
le grade de Docteur Ès Sciences

NEUROPHARMACOLOGIE D'UNE OXIME : LA MONO-ISO-NITROSO-ACÉTONE



soutenue le 6 Mars 1970
devant la Commission d'Examen :

MM. SOULAYRAC *Président*
BOISSIER *Examineurs*
BENOIT > >



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549911_0013

A mes juges :

- Monsieur le Professeur Soulayrac

en témoignage de profond respect et
de gratitude pour l'honneur qu'il m'a
fait en acceptant de présider mon
jury de thèse.

- Monsieur le Professeur Boissier

dont j'admire l'inépuisable science
servie par la pensée la plus haute et
la plus claire.

- Monsieur le Professeur Benoît

qui m'a toujours aimablement accueilli
dans son laboratoire et prodigué les
plus précieux conseils.



A Monsieur le Médecin Général Jaulmes

qui est à l'origine de ma carrière
scientifique, et qui a protégé et encour-
ragé mes débuts en pharmacologie.

A tous les miens.

En préambule à ce travail, je suis heureux d'adresser mes remerciements à Monsieur l'Ingénieur en Chef Ricaud, à qui je dois la possibilité d'avoir pu réaliser cette thèse dans le laboratoire de Thérapeutique Expérimentale de la Section d'Etudes de Biologie et de Chimie qu'il dirige.

Ma reconnaissance va également à Monsieur l'Ingénieur Général Defrance, à Monsieur l'Ingénieur en Chef Leblanc, et à Monsieur le Pharmacien Chimiste en Chef Rault pour les encouragements et les facilités qu'ils m'ont apportés, et qui m'ont grandement aidé dans ma tâche.

Je dois à Monsieur Lévy et à Monsieur Kiffer de m'avoir synthétisé la MINA que j'ai utilisée pour ce travail et je les assure ici de ma gratitude.

Enfin, je dois tout spécialement remercier tous ceux qui ont collaboré à cette étude, et particulièrement mes amis P. André et J. Revol, et Monsieur P. Simon, ainsi que Monsieur J. Rannaud qui a aimablement réalisé à ma demande le travail d'histologie qu'on pourra voir dans certains chapitres, Monsieur Boissière qui a exécuté pour moi un considérable travail de photographie, et enfin mes collaborateurs directs, Messieurs Jam et Pastre, et Madame Martain.

NEUROPHARMACOLOGIE D'UNE OXIME :

LA MONO-ISO-NITROSO-ACETONE.

- I	: Introduction.	p. 2
- II	: Propriétés physiques et chimiques.	p. 7
- III	: MINA et Traitement des intoxications par organophosphorés.	p. 10
- IV	: Toxicité.	p. 29
- V	: Métabolisme de la MINA.	p. 43
- VI	: MINA et Système Nerveux Autonome.	p. 51
- VII	: Action cardio-vasculaire de la MINA.	p. 64
- VIII	: Action de la MINA sur les fibres musculaires.	p. 83
- IX	: Action neuroleptique de la MINA.	p. 88
- X	: MINA et Centres respiratoires.	p. 109
- XI	: MINA et Convulsivants.	p. 119
- XII	: MINA et Système Nerveux Central.	p. 138
- XIII	: Modifications du métabolisme cérébral provoquées par la MINA.	p. 153
- XIV	: Action de la MINA sur la sérotonine et les catécholamines.	p. 178
- XV	: Conclusions.	p. 196
-	: Résumé.	p. 204
-	: Bibliographie.	p. 207

Chapitre I. Introduction

Depuis la découverte par Schröder (184) des organophosphorés inhibiteurs de cholinestérase, la question du traitement des intoxications dues à ces produits est devenue très préoccupante, car les possibilités d'emploi de ces toxiques n'ont cessé de se multiplier : on peut en effet envisager de les utiliser -dans une éventualité que l'on espère improbable- comme toxique de guerre (Sarin, Soman, Tabun, Phophothioalkylamines) ; mais même l'emploi pacifique de ces composés représente un danger certain : en effet, ils peuvent être des insecticides très puissants (Parathion, Endothion, etc.), utilisés à l'heure actuelle sur une grande échelle ; chaque année, il faut déplorer de ce fait des dizaines d'intoxications accidentelles. C'est dire l'intérêt de toutes les formes de thérapeutiques actives contre les organophosphorés, et de l'explication de leur mode d'action, ce que nous avons l'ambition de faire dans ce travail avec l'un d'eux : la Mono-Iso-Nitroso-Acétone.

Inhibition et réactivation des Cholinestérases.

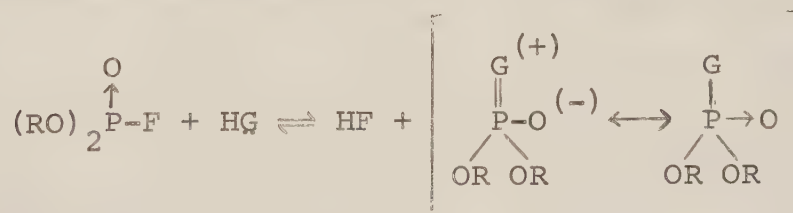
Le mécanisme du blocage enzymatique de la cholinestérase par les composés organophosphorés (COP), est actuellement bien connu. On peut le résumer comme suit : l'inhibiteur se fixe sur le site estérasique de l'enzyme par son groupement électronégatif (qui peut être constitué par un atome de Fluor dans le cas du Sarin ou du Soman, par un groupement CN dans le cas du Tabun, ou par un radical paranitrophényl s'il s'agit de parathion). Cette fixation réalise une phosphorylation du site actif de l'enzyme. Les phosphothioalkylamines et les produits du genre de l'insecticide "Systox" ont un mécanisme d'action plus complexe, le groupement P-S de ces toxiques devant être préalablement hydrolysé par la cholinestérase (de la même façon que la liaison ester de l'acétylcholine), avant que la phosphorylation puisse se faire (Tamelin, 191).

La liaison phosphorylante du complexe enzyme-inhibiteur peut s'hydrolyser spontanément. Mais, à l'inverse de ce qui se passe dans l'acétylation de l'enzyme lors du mécanisme physiologique de l'hydrolyse de l'acétylcholine, où la coupure de la liaison acétylante est très rapide, la coupure de la liaison phosphorylante nécessite beaucoup de temps. Dans la pratique, on peut considérer l'inhibition de la cholinestérase par les organophosphorés comme irréversible. En fait, c'est seulement dans les cas d'intoxication peu marqués qu'on peut assister à une régénération spontanée de la cholinestérase, en un certain nombre de jours ou de semaines.

Dans les cas d'intoxication massive, cette régénération ne peut se produire dans des délais suffisamment brefs, et la mort survient bien avant que la récupération soit effective.

Or les travaux de Wilson (205) ont montré qu'il était possible de réparer la lésion biochimique provoquée par la fixation des organophosphorés sur la cholinestérase, en accélérant l'hydrolyse de la liaison phosphore-enzyme, grâce à l'emploi de corps plus nucléophiles que l'eau.

Voici, d'après Wilson (205), comment se présente l'inhibition par un organophosphoré, du site actif (estérasiq... de la cholinestérase, qui comporte un groupe acide représenté par un atome d'hydrogène, et un groupe basique représenté par une paire d'électrons, la figuration de l'ensemble étant donc ici H-G.



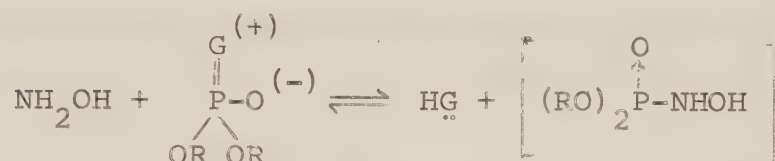
On a donc deux formes d'enzyme phosphorylée, dont l'une pourra s'hydrolyser, donc se réactiver, de la façon suivante :



...

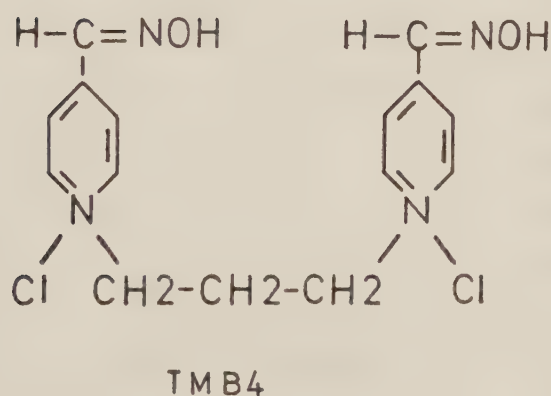
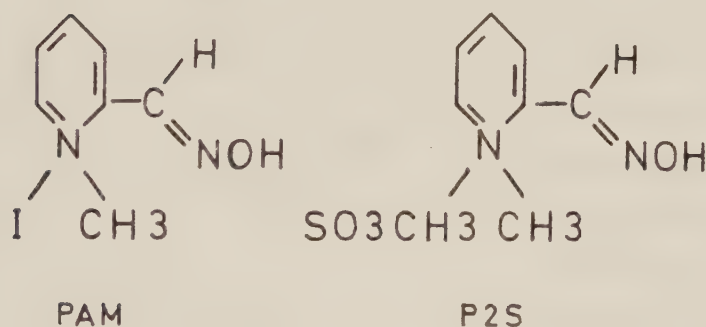
On obtient donc la restitution du site estérasique de l'enzyme, et le toxique perd son groupement électronégatif, ici l'atome de fluor, et en même temps son pouvoir inhibiteur.

Avec un réactif nucléophile (ici l'hydroxylamine), les choses vont se passer de la même façon, et on obtiendra :



Expérimentalement, l'hydroxylamine, et les acides hydroxamiques ont montré une action réactivatrice in vitro. Mais la vitesse de réaction était encore trop lente. Aussi Wilson a-t-il utilisé une structure moléculaire possédant une fonction ammonium quaternaire capable de l'orienter sur la surface active de l'enzyme par fixation sur le site anionique de celle-ci, ce qui en augmente beaucoup la réactivité sur la liaison phosphorylante du

site estérasique (Wilson et Ginsburg, 206). On aboutit ainsi au 2 PAM (IodoMéthylate de 2 Pyridine Aldoxime), d'où sont dérivées un certain nombre de réactivateurs possédant la même structure : le Sulfométhylate de 2 Pyridine Aldoxime (P2S), et le Tri Méthyl bis Pyridine 4 Aldoxime (TMB4), entre autres.



Structure de quelques réactivateurs pyridiniques.

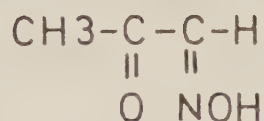
Des résultats très intéressants, et aujourd'hui très nombreux, ont été publiés sur les traitements, expérimentaux ou cliniques, d'intoxications par les organophos-

phorés. Nous ne citerons parmi eux que les publications de Hobbiger (117) et de Wilson et Sondheimer (207).

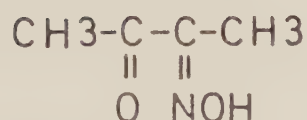
Mais les réactivateurs de cholinestérase dérivés de la Pyridine, donc comportant un ammonium quaternaire, ne peuvent franchir la barrière hémato-encéphalique (Hobbiger, 117) et ne peuvent donc réactiver les cholinestérases cérébrales, et en premier lieu celles des centres respiratoires, d'importance vitale.

Certains auteurs ont pourtant admis un effet central des oximes pyridiniques (Wislicki, 209, Longo et Nachmanson, 147), d'autres, (Firemark et coll. 83, Milosevic et Andjelkovic, 158), ont trouvé dans certaines conditions une réactivation par le PAM des cholinestérases cérébrales. Edery (71) a retrouvé l'oxime dans le liquide céphalorachidien d'animaux, après administration IV, mais sans effet sur l'activité enzymatique.

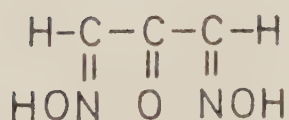
En réalité, si l'on en juge par leur effet sur le blocage respiratoire survenant au cours des intoxications par les COP, les oximes pyridiniques, (à l'exception peut-être du Chlorure de Bis-



MINA



DAM



DINA

Structure des principales
Oxo-Oximes.

4-Hydroxyimino-Méthyl-Pyridinium-1-Methyl Ether, ou BH6, qui semble avoir un certain pouvoir de pénétration de la barrière hémato-encéphalique d'après Erdmann, 76, et Staudacher, 188), n'ont que des possibilités extrêmement réduites de restauration de l'activité centrale, ainsi qu'on le verra dans les chapîtres suivants. On doit alors employer la respiration artificielle pour assurer la survie des intoxiqués, ce qui constitue une sujétion d'ordre pratique très importante dans une thérapeutique d'extrême urgence, d'autant plus qu'il n'est pas possible de pratiquer une assistance respiratoire non mécanique,

...

du fait du bronchospasme qui rend nécessaire l'utilisation d'une pression positive d'insufflation assez élevée.

Aussi l'intérêt des oximes non pyridiniques, ne possédant pas de groupement ionisé positivement, et donc capables de passer dans le cerveau, est-il très grand. Ces produits sont des 2-Oxo-Oximes, et elles sont représentées principalement par la Mono-Iso-Nitroso-Acétone (MINA), la DiIso-Nitroso-Acétone (DINA), et la DiAcétyl-Mono-Oxime (DAM).

La somme des travaux consacrés à l'étude de ces corps est toutefois nettement inférieure à celle publiée pour les oximes pyridiniques, malgré l'efficacité quelquefois spectaculaire de certains d'entre eux, en particulier la MINA.

Nous avons donc cherché au cours du présent travail à éclaircir quelques unes des propriétés pharmacologiques de cette drogue, dans certains de ses aspects qui n'ont jusqu'à présent pas fait l'objet d'investigations de la part d'autres chercheurs. Nous avons par contre partiellement délaissé, n'en faisant qu'un survol rapide, les effets qui en sont bien connus, spécialement le pouvoir réactivateur sur les cholinestérases inhibées par les COP.

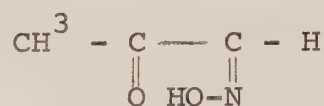
Chapitre II. Propriétés physiques et chimiques.

La MINA, encore appelée pyruvaldoxime, semble avoir été préparée pour la première fois par Meyer et Züblin en 1878 (157). Elle a également été décrite par Claisen (53) en 1887. Mais il semble qu'aucune utilisation n'en ait été faite jusqu'à l'époque où, en temps qu'oxime, elle ait intéressé les chercheurs travaillant dans le domaine de la réactivation des cholinestérases inhibées par les organophosphorés.

La formule de la MINA est celle que nous avons vue au chapitre précédent. Mais il en existerait en réalité deux formes (Marangoni, Ribaldone et Nenz, 152) :



Forme α



Forme β

Mais Taylor (in Marangoni, 152) estime que la forme α est la seule qui existe en réalité.

Le poids moléculaire de la MINA est de 87. Son point de fusion est de 67°. C'est un corps blanc qui cristallise en longues aiguilles lorsqu'il est pur, et qui se sublime facilement, même à température ambiante. Il est très soluble dans l'eau et hygroscopique. La saveur en est sucrée, mais astringente.

On peut utiliser le sel de sodium de l'oxime. La conservation en est bonne, mais sa forte basicité en rend l'emploi malaisé. En solution tamponnée, les propriétés en sont toutefois les mêmes que celle de la MINA.

Au cours de ce travail, nous avons été amené à préciser certaines des propriétés pharmacologiques de la MINA en utilisant les deux oximes de la série grasse qui ont une constitution

...

voisine (bien que leur action soit quelquefois opposée, comme nous le verrons à propos de la DAM, qui pourtant ne diffère de la MINA que par la substitution d'un CH^3 à l'atome d'hydrogène du dernier carbone).

De même, nous avons dû faire parfois appel à la DINA, qui présente essentiellement les mêmes propriétés que la MINA, malgré la présence de deux fonctions oximes dans sa molécule. Mais la toxicité élevée de la DINA en rend l'utilisation délicate, et ne justifie pas l'étude détaillée de son mode d'action.

Synthèse de la MINA.

Plusieurs procédés de synthèse existent pour obtenir de la MINA. L'un d'eux a été décrit par Fréon (89) à partir de l'ether acétylacétique et du nitrite de soude. Un autre procédé plus récent est dû à Langsdorf et Naylor (141). Il consiste à faire réagir de l'acétone et du nitrite de méthyl sous pression en présence d'un acide minéral qui joue le rôle de catalyseur. Coraor (59) lui, fait réagir l'acétone avec un nitrite d'alkyle supérieur (nitrite d'isopropyl de préférence) en présence d'acide chlorydrique comme catalyseur. Enfin, la société Belge SICEDISON (186) a déposé le 14 décembre 1961, sous le N° 18725, un brevet pour la préparation des isonitrosocétones par nitrosation de composés cétoniques comportant un groupe méthyle ou méthylène adjacent au carbonyle, au moyen du chlorure de nitrosyle, en présence d'un accepteur d'acide chlorydrique.

D'autre part, Lévy (143) a utilisé le méthylate de Sodium et la MINA pour préparer un sel acide de l'oxime.

Conservation.

La MINA est un produit assez peu stable, qui se décompose rapidement à l'air humide en donnant de l'acide acétique, de l'acide cyanhydrique, et des composés bruns amorphes mal définis et qu'il ne nous a pas été possible d'identifier.

...

Du fait de l'hygroscopicité du produit, il est assez difficile d'assurer une conservation correcte de la MINA, car la décomposition s'amorce toujours à la longue, même si l'on prend la précaution de la garder sous air sec ou sous vide, ou même de procéder à une lyophilisation dans les conditions ordinaires.

La seule méthode nous ayant donné une conservation indéfinie consiste à procéder à la sublimation à froid sous vide de la MINA en utilisant un appareil à lyophiliser. Le produit est, dans ces conditions, recueilli dans le piège de l'appareil. Il est ensuite conservé sous atmosphère d'azote sec. Ce procédé nous a ainsi permis de conserver des échantillons de MINA pendant cinq ans sans aucune altération, car il est le seul à permettre d'obtenir une déshydratation totale de l'oxime.

Purification.

On peut être amené, lorsqu'on dispose de MINA présentant des traces d'altération, à procéder à la récupération de la drogue intacte. Dans ce cas, on procède comme suit : le produit à purifier est d'abord dissous dans la quantité la plus faible possible d'éther éthylique rigoureusement anhydre. La solution obtenue est alors introduite dans une ampoule à décanter avec de l'éther de pétrole, et agitée. Les impuretés, moins solubles dans l'éther de pétrole que la MINA elle-même, se rassemblent au fond de l'ampoule à décanter et sont éliminées. On évapore ensuite l'éther de pétrole et on récupère la MINA. On procède éventuellement à plusieurs opérations successives, et l'on parvient de la sorte à obtenir un produit parfaitement blanc correspondant au point de fusion correct.

Nous avons procédé de la sorte au cours de nos expériences de façon à n'employer qu'un produit rigoureusement pur.

Chapitre III. La MINA dans le traitement des intoxications par organophosphorés.

A - Revue de la littérature.

L'efficacité thérapeutique de la MINA a été reconnue depuis longtemps. Parmi les travaux qui ont été consacrés à l'action de cette oxime, et qui sont relativement nombreux, on peut citer d'abord le travail de Child, Davies et coll. (51) qui étudient la réactivation par les acides hydroxamiques et les oximes, de la cholinestérase inhibée par les organophosphorés. Ces auteurs concluent à une action très intéressante de la MINA sur l'enzyme erythrocytaire de Rat inhibé par le Sarin, moindre que celle du PAM, mais en tous cas supérieure aux acides hydroxamiques.

Holmés et Robins (118) ont essayé de renverser le bloc neuromusculaire provoqué sur le diaphragme de Rat par le TEPP, le DFP ou le Sarin. Ils ont trouvé que ce bloc était rapidement levé soit par la MINA, soit par la DINA, et probablement par un mécanisme faisant appel à la réactivation des cholinestérases. Ces deux oxo-oximes sont plus efficaces que le PAM, ce dernier produit ayant une action propre de blocage neuro-musculaire, à des concentrations suffisamment élevées.

Askew (5) a également étudié l'activité de la MINA sur des rats intoxiqués par le Sarin. Cette oxime est capable d'élever de 4 à 6 fois la DL 50 du Sarin. Askew fait remarquer que la MINA, administrée après l'injection de toxique, fait cesser très rapidement les convulsions et les signes d'intoxication anticholinestérique.

Dans un autre travail, Askew (6) a examiné l'influence de la combinaison atropine-oxime, dans l'intoxication par le Sarin, et a trouvé que cette association double ou triple l'effet protecteur de la MINA et de la DAM chez des souris et des rats, (alors

qu'elle multiplie celui du PAM par 9 ou 10). Toutefois, l'effet de l'atropine est moins important si on l'administre après le Sarin. Chez des singes, administrée conjointement avec la MINA ou la DAM, l'atropine augmente la DL 50 du Sarin de 7 à 14 fois.

Davies et Green (63) ont étudié la réactivation de la cholinestérase inhibée par le TEPP ou le Sarin sous l'influence des alpha-cétoximes, et ont montré que cette réactivation est une réaction du second ordre.

Green et Saville (104) ont ensuite étudié le mécanisme de la réaction directe entre le Sarin et les oxo-oximes, et discuté l'influence de la structure des diverses oximes sur la réactivité.

Dultz, Epstein et Freeman (69) ont donné la toxicité de la MINA sur des rats et des souris, et montré d'autre part que celle-ci augmente la DL 50 du Sarin respectivement de 2 et 5 fois chez ces animaux.

Rutland (178) a montré que la MINA et la DAM sont capables de réactiver la cholinestérase cérébrale de rats intoxiqués par le Sarin. Dans une autre publication (179), Rutland a comparé l'effet de la DAM, de la MINA et du PAM sur la réactivation des cholinestérases du sang et du cerveau, et a montré que seules la MINA et la DAM étaient capables de protéger et de réactiver l'enzyme du cerveau, la MINA étant le produit le plus actif, et d'action la plus rapide. Rutland fait de cette réactivation des cholinestérases cérébrales le principal facteur qui explique l'action bienfaisante de la MINA.

Askew, Davies et Green (7) ont montré que les effets de la MINA, de la DAM et du PAM ne sont pas entièrement en rapport avec leur pouvoir réactivateur, ou leur capacité de réagir directement avec les toxiques. Ils ont montré également que la MINA est plus active chez les rats que chez les autres animaux, et que l'action de l'oxime est considérablement renforcée par l'atropine et la respiration artificielle.

...

Green et Smith (105) ont étudié sur le plan chimique la réactivation de la cholinestérase inhibées par les composés organophosphorés, par les 2-Oxoalldoximes. Ils ont montré la formation d'un complexe entre le réactivateur et l'enzyme, dans un premier temps. Ces auteurs pensent que le groupe carbonyle de la MINA subit une liaison de complexation avec l'enzyme, à la manière de ce qui se passe entre le site anionique de la cholinestérase et le groupement ammonium quaternaire des réactivateurs pyridiniques. Le pouvoir réactivateur est influencé par la structure isomérique de l'oxime.

Steinberg et Bolger (189) sans faire de référence spéciale à la MINA, ont étudié l'influence de la structure des isonitrosocétones sur leur pouvoir réactivateur.

Wagley (200) lui, a recherché l'influence des oximes sur les potentiels de plaque des muscles striés. Les différents produits étudiés ne donnent pas la même réponse : la DAM diminue l'amplitude du potentiel. Au contraire, le PAM et la MINA élèvent le pic d'une façon très nette. Wagley suggère trois explications : augmentation de la quantité d'acétylcholine libérée ; modification de l'activité de la cholinestérase des plaques motrices ; modification de la constante de temps de la membrane synaptique. Meeter (156) a confirmé l'action de la MINA sur l'EPP.

On peut encore citer, sur la biochimie de la réactivation des cholinestérases par les oxoalldoximes, Green, Sainsbury et coll. (106) qui ont mesuré les vitesses de réaction de ces corps.

Cohen et Wiersinga (54) de leur côté ont étudié l'action des oximes dans l'intoxication du rat et du cobaye par le Sarin, en comparant l'action de la MINA, de la DAM et du PAM. Ces auteurs ont conclu que les mécanismes d'action sont différents pour les trois drogues, la DAM agissant essentiellement par sa capacité de se combiner avec la toxique en détruisant celui-ci, le PAM ayant une action avant tout réactivatrice, et la MINA possédant l'une et l'autre possibilité.

...

En fait l'action de la DAM a été précisée par les travaux de Myers (160) et ceux de Christen (52) qui ont montré que la DAM agissait surtout par réactivation préférentielle de la tributyrinase plasmatique (chez les animaux où cette enzyme est abondante, c'est-à-dire essentiellement le rat, ce qui explique que la DAM donne de bons résultats surtout chez cet animal). Il ne semble pas que la MINA possède des propriétés réactivatrices aussi restreintes.

Van der Meer et Wolthuis (155) ont aussi utilisé la MINA dans leurs études sur l'efficacité des oximes en fonction du "vieillissement" de la cholinestérase inhibée par différents organophosphorés, Fredrikson et Tibling également (88). Rajapurkar et Koelle (167) utilisant à la fois la méthode biochimique et la méthode histochimique de mesure de l'activité cholinestérasique ont montré aussi l'efficacité de la MINA vis-à-vis du DFP. Rajapurkar et Panjwani (168) ont repris ce travail avec le diazinon, et ont obtenu des résultats analogues. De même Kagan (128) a trouvé une bonne efficacité de la MINA dans la réactivation de la cholinestérase inhibée par le mercaptophos ; et Kuriyama et coll., utilisant des souris intoxiquées au parathion pensent que la MINA et la DAM sont les oximes les plus efficaces (138).

Enfin, Mamo (151) a essayé diverses oximes, dont la MINA sur le myosis provoqué par le DFP, à la fois sur le lapin et sur l'homme (bien que la MINA ait été jugée trop toxique dans ce dernier cas). Les résultats ne sont pas très favorables à la MINA alors que Harris et Mc Culloch (113), sur le même test, trouvent une activité incontestable.

On peut encore citer Boskovic (28) qui a examiné l'effet de la MINA sur le muscle strié de rat in vivo, en trouvant une diminution de la contraction du muscle.

...

Au total, la plupart des auteurs cités s'accordent pour attribuer à la MINA un pouvoir réactivateur intéressant sur les cholinestérases inhibées surtout par le Sarin ou le Tepp, l'unanimité se faisant toutefois pour trouver que les oximes pyridiniques sont plus puissantes in vitro. Mais les résultats pratiques in vivo sont souvent inverses, et à cet égard les travaux de Rutland (178) sont significatifs, surtout par l'interprétation qu'ils apportent.

B - Partie expérimentale.

Nous avons pour notre part repris l'étude de l'action comparée du PAM et de la MINA dans le traitement de l'intoxication expérimentale par le Sarin.

a) Action globale des deux oximes.

Trois lots de souris, de dix animaux chacun, reçoivent une DL 100 de Sarin (300 μ g/kg, s/cut.). L'un des lots sert de témoin ; un autre reçoit, 3 minutes après l'intoxication, 100 mg/kg de PAM par voie intra-péritonéale, et le dernier lot 100 mg/kg de MINA, également par voie intra-péritonéale. Les résultats sont les suivants :

Tableau I

Sarin 300 μ g/kg	s. cut.
	Mortalité
Témoins	10/10
PAM 100 mg/kg	8/10
MINA 100 mg/kg	2/10

Dans ce cas, la MINA a donc une action plus favorable que celle du PAM. Il reste à expliquer pourquoi. D'abord, il importe de comparer le pouvoir de réactivation des deux oximes.

b) Réactivation in vitro de la cholinestérase globulaire.

De la cholinestérase globulaire humaine, provenant de sang humain conservé, dont les globules sont centrifugés, puis lavés au sérum physiologique, est inhibée par une concentration de Sarin donnant 95 % environ d'inhibition de l'activité initiale. Les réactivateurs sont ajoutés au milieu d'incubation à un temps donné, aux concentrations de 0,1 M et 0,025 M. Le temps choisi est de trente minutes après la mise en contact des globules avec le toxique,

...

afin d'éviter l'intervention d'un facteur de vieillissement de l'inhibition ; la réactivation obtenue est mesurée (par la méthode manométrique d'Ammon, 1) après une heure, et cinq heures de contact du réactivateur avec l'enzyme inhibée.

Tableau II

Réactivateur	Temps de contact	Concentration du réactivateur	
		0,01 M	0,025 M
PAM	5 minutes	78 %	62 %
MINA		63 %	84 %
PAM	1 heure	70 %	73 %
MINA		97 %	100 %
PAM	24 heures	79 %	68 %
MINA		100 %	100 %

Pourcentage de réactivation de la cholinestérase de G.R. humains inhibée à 95 % par le Sarin.

On voit donc que, à la concentration de 0,01 M et au bout de 5 minutes, le PAM donne des résultats meilleurs que la MINA. Avec des concentrations plus élevées, et aussi au bout d'un temps de contact plus long, les résultats s'inversent et deviennent favorables à la MINA (mais dans la pratique ils sont moins intéressants au point de vue thérapeutique, étant donné cette longueur d'action nécessaire). L'explication de ce renversement du pourcentage de réactivation entre le PAM et la MINA tient au fait, signalé par Hackley et Steinberg (110) que les oximes pyridiniques peuvent former avec les organophosphorés des complexes eux-mêmes puissamment inhibiteurs de la cholinestérase ; cette inhibition devient importante au bout d'un temps de contact suffisamment prolongé ; et en cas d'utilisation de concentrations élevées de PAM, on a une inhibition due au réactivateur lui-même qui a en effet un certain pouvoir inhibiteur propre.

...

Mais ces résultats ne sont toutefois pas suffisants pour comprendre la supériorité manifeste de la MINA dans l'expérience précédente.

c) Réactivation in vivo des cholinestérases globulaires et cérébrales.

Nous avons utilisé pour cet essai le cobaye, chez lequel il est plus facile que chez la souris de mesurer à la fois la valeur des activités cholinestérasiques globulaires et cérébrales. Cet animal étant plus sensible au Sarin que la souris, la dose de toxique utilisée a été de 200 $\mu\text{g/kg}$ (2 DL 50 environ). Cette dose provoque chez les témoins la mort en dix minutes environ, avec une inhibition de 100 % des cholinestérases. Par contre, les animaux traités soit par le PAM, soit par la MINA, survivent. On les a donc sacrifiés au bout de une heure et cinq heures. Les cerveaux ont alors été prélevés immédiatement, homogénéisés, et leur activité cholinestérasique mesurée, ainsi que celle du sang, par la méthode d'Ammon. Dans cet essai, nous avons employé, pour réduire la toxicité propre de la MINA, une adjonction d'hyposulfite de sodium (qui n'intervient pas dans la réactivation). Nous reviendrons sur la toxicité propre de la MINA dans le chapitre IV.

Tableau III

Réactivateur	Temps	ChE globulaire	ChE cérébrale
MINA 200 mg/kg + $\text{S}^2\text{O}^3\text{Na}^2$ 500 mg/kg	1 heure	37,5 %	61 %
	5 heures	67,5 %	64,5 %
PAM 100 mg/kg	1 heure	81 %	0 %
	5 heures	81 %	1 %

Pourcentage de réactivation in vivo des ChE globulaires et cérébrales du cobaye intoxiqué par 200 $\mu\text{g/kg}$ s. cut. de Sarin.

...

Aux doses choisies des deux réactivateurs, le PAM possède, sur le sang, un pouvoir réactivateur supérieur à celui de la MINA (ce qui confirme les résultats de la littérature).

Mais, en ce qui concerne les cholinestérases cérébrales, la MINA manifeste un avantage très net et montre bien sa capacité, que ne possède pas le PAM, de traverser la barrière hémato-encéphalique et de réactiver les cholinestérases bulbaires en particulier. Or, le blocage des centres respiratoires est une des causes de la mort et peut-être la principale, dans les intoxications par organophosphorés (de Candolle et coll., 41).

Il semble donc bien que dans cette expérience ait été mise en évidence une des raisons de la supériorité pratique de la MINA sur les oximes quaternarisées, malgré l'handicap que constitue pour cette drogue une moindre capacité réactivatrice.

d) Association avec l'atropine.

Pour éviter l'emploi de fortes doses de MINA, à cause de la toxicité propre de cette drogue, il est intéressant d'en augmenter l'efficacité relative. Le procédé le plus simple consiste à utiliser l'association avec l'atropine. On sait en effet que le pouvoir antidote des oximes en général est très augmenté par l'emploi concomitant d'un anticholinergique (Askew et coll., 5) et que les deux modes de traitement sont mutuellement potentialisés.

Dans le cas de la MINA, nous pouvons citer comme exemple de cette potentialisation les expériences suivantes :

- 1 - Cobayes : Intoxication par une DL 50 de Sarin (100 $\mu\text{g/kg}$) sous-cutanée. Traitement administré 3 minutes après l'intoxication, par voie intra-péritonéale.

...

La mortalité est :

Témoins	3/5
Atropine 2,5 mg/kg	4/5
MINA 75 mg/kg	1/5
MINA 75 mg/kg + Atropine 2,5 mg/kg	0/5

2 - Rats : Intoxication par 2 DL 50 de Sarin (200 µg/kg)
sous-cutanée. Traitement administré par voie
intrapéritonéale, 3 minutes après l'intoxication.
La mortalité est :

Témoins	5/5
Atropine 0,25 mg/kg	5/5
MINA 75 mg/kg	2/5
Atropine 0,25 mg/kg + MINA 75 mg/kg	0/5
Témoins	5/5
Atropine 1 mg/kg	5/5
MINA 50 mg/kg	1/5
Atropine 1 mg/kg + MINA 50 mg/kg	0/5
Témoins	10/10
Atropine 10 mg/kg	10/10
MINA 10 mg/kg	3/10
Atropine 10 mg/kg + MINA 10 mg/kg	0/10

On voit donc que dans cet essai des doses croissantes d'atropine sont inefficaces si elles sont employées seules, et même à la dose relativement élevée de 10 mg/kg. Inversement, des doses décroissantes de MINA perdent leur pouvoir antidote, bien qu'une dose aussi faible que 10 mg/kg, (relativement à la posologie normale de cette oxime) ait encore une action bien visible. Mais

...

l'association de ces deux médicaments, atropine et MINA, donne de très bons résultats à toutes les doses. Bien que nous n'ayons pas, dans cet essai, mesuré la réactivation des cholinestérases cérébrales, il est vraisemblable, à partir des résultats obtenus précédemment, que le taux de réactivation cérébrale donné par 10 mg/kg de MINA est assez faible. Mais il doit être néanmoins suffisant pour assurer les fonctions vitales respiratoires de tous les animaux, grâce à l'action complémentaire de l'atropine.

Nous avons, pour préciser ce point, repris l'expérience précédente. Trois lots de huit rats ont été constitués :

- a - Premier lot : Intoxication sous-cutanée par 200 μ g/kg de Sarin. Sacrifice avant la mort à 7 minutes (le temps moyen de mortalité à cette dose est de 10 minutes). Mesure de l'activité cholinestérasique du sang et du cerveau.
- b - Deuxième lot : Intoxication dans les mêmes conditions. Injection 3 minutes après du mélange Atropine 10 mg/kg + MINA 10 mg/kg. Sacrifice 5 minutes après l'injection thérapeutique et mesure des activités cholinestérasiques du sang et du cerveau.
- c - Troisième lot : Intoxication et traitement dans les mêmes conditions. Sacrifice 1 heure après l'injection thérapeutique et mesure des activités du sang et du cerveau.

Les résultats sont les suivants, exprimés en pourcentage d'activité des moyennes de chaque lot par rapport à l'activité moyenne d'un lot de rats normaux

...

Temps de mesure	Inhibition de l'activité cholinestérasique	
	Sang	Cerveau
	Sarin 200 μ g/kg	100 % 96 %
5 min.	Atropine 10 mg/kg + MINA 10 mg/kg	100 % 94 %
1 heure	Atropine 10 mg/kg + MINA 10 mg/kg	100 % 91,6 %

L'hypothèse envisagée, à savoir que la dose de MINA employée est trop faible pour assurer une réactivation significative, est donc vérifiée. Pourtant, devant le fait de la survie de 100 % des animaux intoxiqués et traités, on est obligé d'admettre, soit qu'un très faible pourcentage de réactivation est suffisant pour assurer le fonctionnement respiratoire (la mesure globale de l'activité cholinestérasique d'un broyat de cerveau n'étant peut-être pas une mesure très exacte de l'activité cholinestérasique au niveau des synapses fonctionnelles, dont certaines peuvent être moins inhibées que d'autres), soit que la MINA possède des propriétés thérapeutiques indépendantes de son pouvoir de réactivation. Toutefois, cette propriété de franchir la barrière hématoencéphalique doit toujours être retenue comme le facteur le plus important de l'action de la MINA, au moins à titre d'hypothèse de travail.

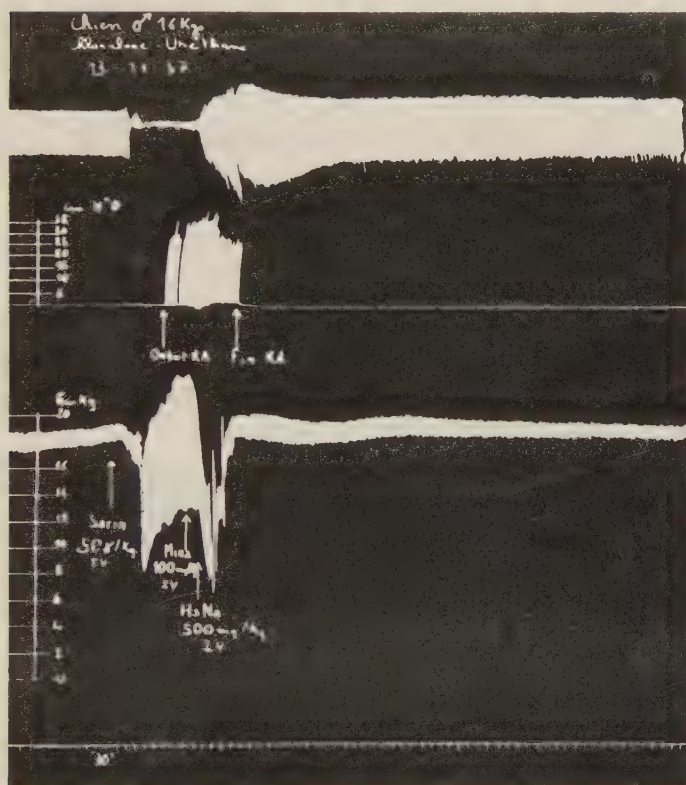
Il est donc nécessaire, pour analyser plus finement les mécanismes d'action de la MINA, de préciser ses actions pharmacologiques. Dans un premier temps nous verrons si des effets particuliers sont révélés dans le traitement de l'intoxication expérimentale du chien.

e) Action de la MINA sur la pression artérielle et la respiration.

Les chiens utilisés, après anesthésie au chloralose-uréthane ont été trachéotomisés de façon à pouvoir être placés sous respiration artificielle s'il en est besoin, et on a enre-

gistré la pression artérielle carotidienne et la respiration thoracique. Les injections éventuelles ont été faites par une veine saphène préalablement canulée.

Un exemple de la marche de l'intoxication et du traitement peut être donné sur le tracé de la figure 1. Dans cette expérience, le toxique (Sarin) a été injecté par voie I.V. à la dose de 50 $\mu\text{g/kg}$, ce qui constitue chez le chien, d'après des essais prépréalables, une dose mortelle. Lors de l'apparition de troubles graves (apnée et bradycardie), la respiration artificielle sous pression, obtenue grâce à une pompe mécanique, a été installée, puis les médicaments injectés par voie I.V.



L'analyse de ce tracé montre que, très rapidement après l'injection de toxique, la respiration s'arrête, en même temps que la tension artérielle augmente. C'est la phase nicotinique de l'intoxication. Puis une bradycardie avec augmentation de l'amplitude de la différentielle apparaît.

L'action de la MINA injectée à ce moment est très remarquable : la respiration reprend très rapidement avec une grande amplitude, et cette reprise est définitive.

Figure 1 : Intoxication par le Sarin et traitement par la MINA.

En haut : pneumogramme thoracique.

Ligne 2 : Pression de respiration artificielle.

Ligne 3 : Pression artérielle carotidienne.

Ligne 4 : Temps.

En ce qui concerne les phénomènes cardio-vasculaires, la MINA provoque rapidement la disparition de la bradycardie, et, après une phase d'hypotension assez brève, le rythme cardiaque et la pression artérielle redeviennent normaux.

Il est important de souligner que l'action de la MINA est spécialement importante sur la respiration. On pourra comparer à cet égard ce tracé avec celui de la figure 2 où l'on a utilisé du TMB4, sans aucun effet en ce qui concerne la reprise respiratoire.

Dans ce tracé, on a enregistré, en plus des paramètres précédents, le péristaltisme intestinal, au moyen d'une ampoule de caoutchouc souple introduite dans la lumière de l'intestin.

Le toxique ayant été administré par voie sous cutanée, son effet a été plus long à se manifester, et l'apnée n'est survenue qu'au bout de 40 minutes. Le TMB4 injecté alors, s'il a arrêté les spasmes des fibres lisses intestinales (les mouvements restant visibles sur le tracé sont dûs à la respiration artificielle), et les troubles cardio-vasculaires, a été impuissant à faire repartir la respiration. On a donc injecté de la MINA qui a eu, elle, un effet immédiat et spectaculaire.

Il faut signaler ici, à propos de cet effet sur l'intestin du TMB4, que ce produit est doué d'une action atropinique non négligeable.

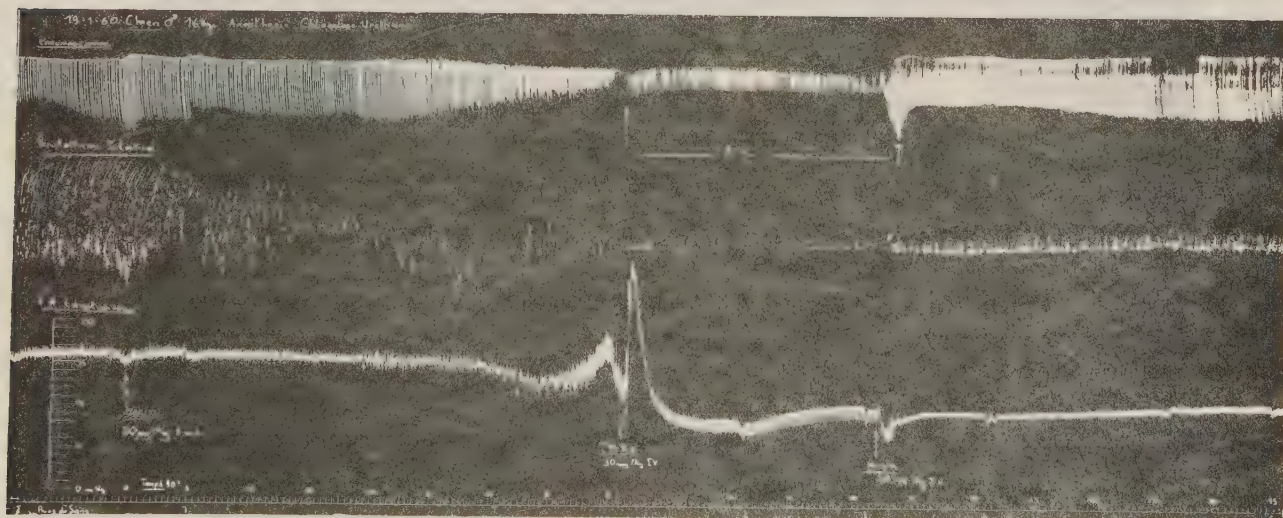


Figure 2. Action comparée du TMB4 et de la MINA dans l'intoxication par le Sarin. De haut en bas : respiration ; péristaltisme intestinal ; pression artérielle carotidienne ; temps.

...

Mais, malgré cela, employé seul, il aurait, dans cet essai, été incapable d'assurer la survie de l'animal, surtout par son absence d'action centrale. De plus, la rapidité d'action de la MINA se manifeste aussi sur les fasciculations musculaires, les mouvements cloniques, le myosis, etc., toutes manifestations classiques des intoxications par anticholinestérasiques qui rétrocedent presque instantanément après l'injection de MINA, et qui persistent beaucoup plus longtemps avec les oximes pyridiniques. Ceci semble dû à la grande vitesse de résorption de la MINA, bien supérieure à celle du P2S ou du TMB4 (Chapitre 5).

f) Action comparée de la MINA sur les centres respiratoires et la musculature bronchique.

On peut toutefois se demander si l'action de l'oxime est réellement centrale. Le tracé suivant éclaire la question (fig. 3). Ici, on a injecté du toxique par voie sous-occipitale, par ponction de la membrane occipito-atloïdienne, de façon à lui donner une action prépondérante sur les centres respiratoires. Mais en fait, la diffu-

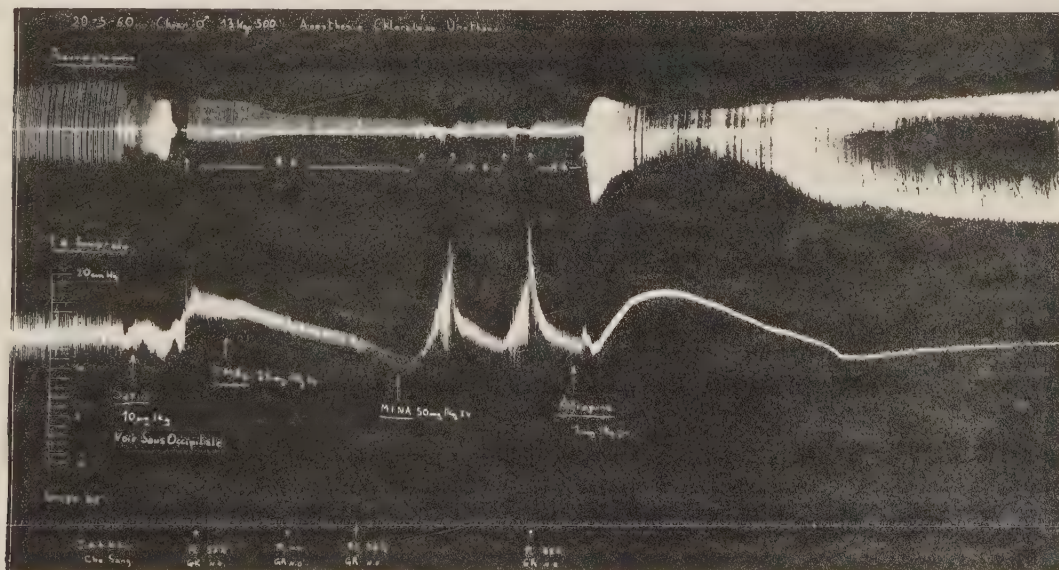


Figure 3 : Action de la MINA sur les centres respiratoires, et de l'atropine sur le bronchospasme. De haut en bas : respiration, tension artérielle carotidienne, temps; la valeur de l'activité des ChE sanguines ont été reportées sur le tracé après dosage.

...

sion du toxique dans l'organisme est cependant très rapide : les mesures d'activité cholinestérasique du sang, faites 5 minutes après l'injection montrent une inhibition de la cholinestérase sanguine pratiquement totale, cependant que des troubles circulatoires à type hypertension nicotinique apparaissent.

Mais, pour nous, le point important est l'apnée qui se manifeste après l'injection du toxique, à la suite d'une brève période d'hyperpnée. La survie doit dès lors être assurée par la mise de l'animal sous respiration artérielle. L'injection de TMB4 n'a d'effet que sur la pression artérielle, il réduit les troubles nicotiniques. Par contre, l'ampliation thoracique est diminuée. La MINA injectée un peu plus tard fait reprendre l'activité respiratoire centrale sous la forme de mouvements respiratoires rapides et de faible amplitude, visibles sur la ligne de base du pneumogramme, lors des arrêts de la pompe à respiration artificielle. Mais ces mouvements respiratoires sont insuffisants pour assurer une ventilation correcte. L'injection d'atropine à ce moment fait repartir la respiration avec une amplitude suffisante.

On peut interpréter cette action comme suit : la MINA ayant permis le fonctionnement des centres respiratoires n'a pas eu un effet suffisant sur les fibres lisses de la musculature bronchique en état de spasme pour qu'elles se relâchent. C'est l'atropine qui a eu cet effet et la conjugaison des deux actions, centrale et périphérique, a permis la reprise respiratoire complète.

La contre-épreuve de cette interaction MINA-Atropine est donnée dans le tracé de la figure 4.

L'intoxications a été faite dans les mêmes conditions que dans le tracé de la figure 3, avec les mêmes résultats sur le plan de l'arrêt respiratoire et des manifestations cardio-vasculaires. Mais, en ce qui concerne le traitement, l'atropine a été injectée la première, sans aucun résultat sur le plan de la reprise respiratoire. Une deuxième injection n'améliore pas l'action thérapeutique.

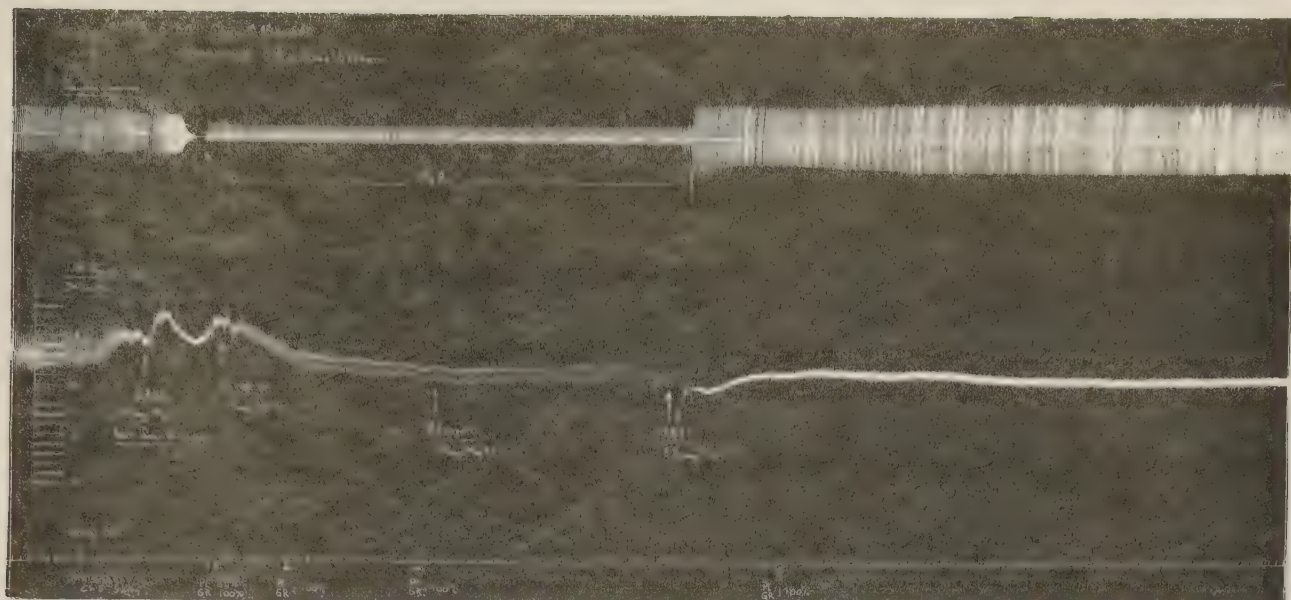


Figure 4 : Action complémentaire de l'atropine et de la MINA sur l'apnée due au Sarin.

Par contre, la MINA restaure très rapidement à la fois le rythme et l'amplitude respiratoires. On peut penser là que l'atropine a dans un premier temps relâché le bronchospasme, mais en l'absence de récupération du fonctionnement des centres respiratoires, ce relâchement ne s'est traduit par aucune amélioration périphérique. Ce n'est que lorsque sous l'action de la MINA, les centres se sont remis à fonctionner que tous les troubles respiratoires se sont amendés.

g) Action de la MINA sur les fibres lisses dans les intoxications par organophosphorés.

Nous avons émis l'hypothèse que la MINA a une action faible sur le spasme provoqué par les anticholinestérasiques sur les fibres lisses. Nous en trouvons une confirmation dans le travail de Bhattacharya et Delaunois (16) qui ont mesuré par leur méthode d'enregistrement du bronchospasme sur le poumon isolé, l'effet de la MINA sur la contracture provoquée par le Sarin, et n'ont pas trouvé une action très énergique.

...

Nous avons repris cette expérience et nous avons obtenu des résultats semblables (figure 5). L'action de la MINA dans ce cas n'est pas nulle, mais elle n'est pas non plus très forte, et il est certain que l'adjonction d'atropine ne peut être que bénéfique.

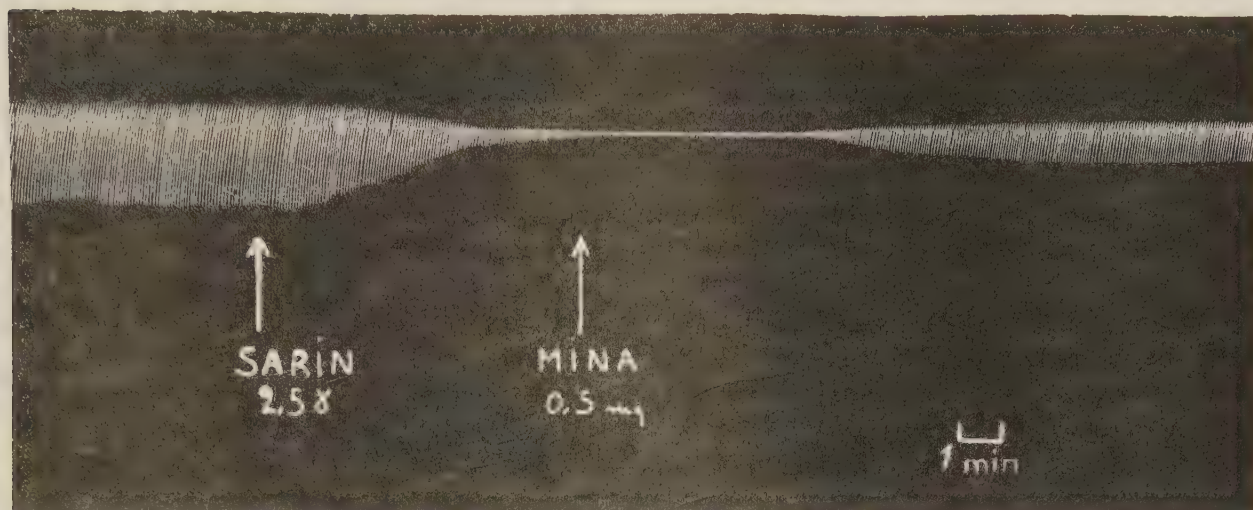


Figure 5 : Action de la MINA sur le bronchospasme provoqué par le Sarin sur le poumon isolé de Cobaye.

Conclusions du chapitre III.

A la suite de ces expériences, le pouvoir thérapeutique de la MINA dans les intoxications par les organophosphorés réactifs se trouve confirmé, et nous voyons apparaître même un certain nombre d'avantages dans l'utilisation de cette drogue sur les réactifs possédant une fonction ammonium quaternaire. Mais un certain nombre de questions se posent qui ne sont toujours pas éclaircies :

- la rapidité d'action de la MINA n'est pas expliquée uniquement par les possibilités réactivatrices de l'oxime. Au contraire, de bons résultats ont été mis en évidence avec un très faible taux de réactivation des cholinestérases.

- On peut alors se demander si la MINA ne possède pas des propriétés pharmacologiques favorables dans le traitement des intoxications, en dehors de toute possibilité de réactivation. La pharmacologie de la MINA, en dehors d'un certain nombre de travaux effectués sur la toxicologie de cette oxime, n'a pas retenu l'attention de très nombreux chercheurs.

Aussi avons nous cherché à préciser les mécanismes d'action et les propriétés encore inconnues de la MINA, devant l'intérêt éventuel que cette drogue pouvait représenter.

Chapitre IV. Toxicité.

La durée de l'action de la MINA étant très brève, et son élimination très rapide, nous n'avons pas jugé utile d'en mesurer la toxicité chronique, et nous nous sommes contentés de l'évaluation de la DL 50 aiguë, et de la mesure de la toxicité par perfusion continue I.V. chez le chien, cette dernière nous permettant d'avoir une idée de l'effet toxique de la MINA sur une espèce animale chez qui nous ne pouvions nous permettre de faire une véritable évaluation de la DL 50.

DL 50 aiguë.

Nous avons utilisé pour cette détermination, la méthode de Miller et Tainter, en travaillant sur plusieurs espèces animales qui nous permettaient d'utiliser un échantillonnage total de 150 à 200 individus. Les résultats obtenus sont les suivants :

Souris mâle IP	184 ± 19 mg/kg
Cobaye " "	162 ± 10 " "
Rat " "	54 ± 5 " "
Rat " oral	114 ± 19 " "

On voit donc que la toxicité de la MINA est très variable suivant les espèces. Il semble d'ailleurs que les herbivores comme le lapin ou le cobaye soient (si l'on en juge par leur sensibilité moindre à la MINA lors des tests pharmacologiques) moins réactifs à l'oxime que le rat, le chien ou le chat. La toxicité de la MINA semble en conséquence plus faible pour ces espèces.

Toxicité en perfusion lente I.V.

Nous avons utilisé ici le chien. Les animaux, au nombre de six au total, ont été anesthésiés au Chloralose-Uréthane, et on a enregistré jusqu'à la mort la pression artérielle et la respiration thoracique. La MINA était administrée à un rythme de perfusion

...

moyenne de 2,9 mg/kg/minute, avec une vitesse d'injection de 0,95 ml/minute.

Chez ces animaux, la mort est survenue après l'administration d'une dose moyenne de 254 ± 13 mg/kg.

L'intérêt de cette mesure consiste en fait dans l'enregistrement des phénomènes toxiques. On en voit un exemple dans le tracé de la figure 6. L'allure de ce tracé appelle quelques commentaires : la mort survient par défaillance cardiaque, alors que, du point de vue respiratoire, on note une stimulation considérable, à la fois en rythme et en amplitude, et de très longue durée, jusqu'à ce que la pression artérielle soit presque tombée à zéro. Il faut aussi signaler qu'il n'y a ni apnée primaire, ni reprise respiratoire sous forme de gasps, ce qui est pourtant classique dans l'intoxication du chien anesthésié par les cyanures ; or, nous allons voir que les interactions MINA-Acide cyanhydrique ont une grosse

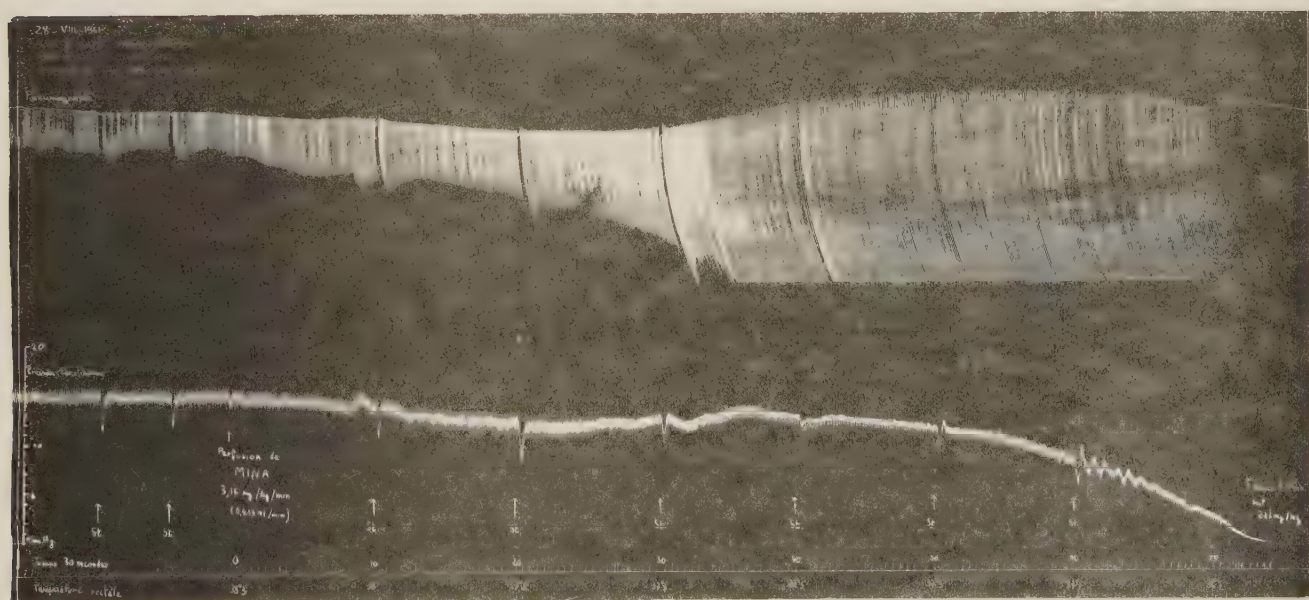


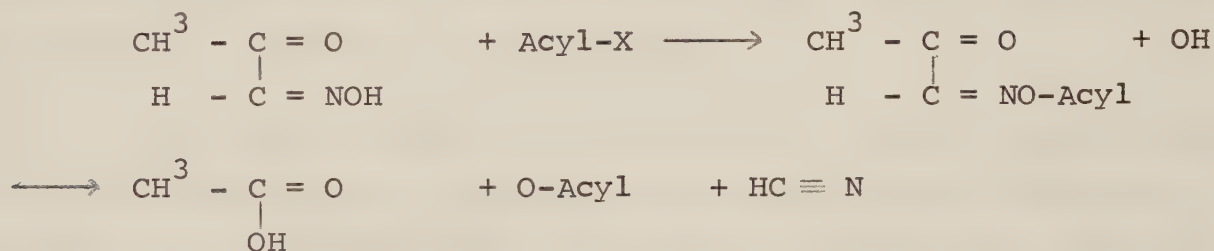
Figure 6 : Déroulement des phénomènes toxiques dûs à la MINA au cours d'une perfusion lente I.V. chez le chien.

importance dans la toxicité de l'oxime. Le fait que la symptomatologie de l'intoxication par la MINA s'écarte de celle du cyanure est une indication intéressante et permet déjà de penser que la MINA peut avoir une action spécifique sur l'organisme.

D'autre part, nous avons également au cours de ces essais procédé à des stimulations vagales périodiques ; ces stimulations sont pratiquement d'égale efficacité jusqu'à la mort ; on ne peut donc attribuer celle-ci à une hyperexcitabilité vagale.

Nature de la toxicité de la MINA.

Green et Saville (104) ont les premiers signalé que la MINA était susceptible de libérer de l'acide cyanhydrique dans l'organisme. Le mécanisme de la réaction serait le suivant : en présence d'un agent acylant du type Acyl-X, (où Acyl peut être un radical sulfonyl ou phosphonyl, et X un radical acide), il se produirait :



Saville a du reste utilisé cette réaction pour un microdosage d'agents acylants, ou phosphorylants (180).

Mais surtout Askew, Davies, Green et Holmes (5) attribuent la toxicité de la MINA à cette formation d'acide cyanhydrique.

Détermination de la quantité d'HCN produite par la MINA.

Cette libération d'acide cyanhydrique par la MINA étant admise, nous avons cherché à en préciser la valeur, en mesurant les quantités d'HCN formées dans l'organisme après administration de l'oxime.

Ces mesures ont d'ailleurs été pour la plupart effectuées conjointement avec celles entreprises pour l'étude du métabolisme de l'oxime. (Chapitre V).

La méthode de dosage utilisée pour déterminer le taux d'HCN libéré est celle de Feldstein (81) qui a adapté le procédé de microdiffusion de Conway (56) au dosage de l'acide cyanhydrique dans les milieux biologiques, avec mesure des quantités d'HCN retrouvées par détermination colorimétrique, utilisant la méthode d'Epstein, modifiée par Boxer et Rickards (30).

Pour le dosage de la MINA, c'est la méthode de Blom (19) qui a été employée, dans sa modification décrite par Askew et coll., (5), en vue de son adaptation au dosage des oximes. Le principe en est le suivant : l'hydrolyse acide de l'oxime produit de l'hydroxylamine, qui est ensuite oxydée par l'iode en acide nitreux ; ce dernier est employé pour diazoter de l'acide sulfanilique, le sel de diazonium obtenu étant ensuite copulé avec l'alpha-naphtylamine pour donner une coloration rose mesurable.

Nous avons procédé à des essais sur le chien, après injection intraveineuse de 35 mg/kg de MINA, ou de 35 mg/kg également, mais par voie intra-musculaire. Les résultats sont donnés au chapitre "Métabolisme" dans les figures 8 et 9. On peut y voir que le taux maximum d'acide cyanhydrique se situe entre 1,5 et 2,5 $\mu\text{g/ml}$ de sang, la teneur en HCN croît de façon inverse de celle de l'oxime ; le maximum est atteint en 90 minutes. Ces résultats sont d'ailleurs conformes à ceux d'Askew et coll.

On peut constater aussi, (fig. 8 et 9), que la teneur en HCN du plasma et des globules est très différente, et qu'une quantité très supérieure est retrouvée au niveau de ces derniers. Nous avons d'ailleurs confirmé ce phénomène par l'expérience suivante : on a injecté à des cobayes, par voie I.P., 10 mg/kg de CNNa. Avant la mort, entre 8 et 15 minutes, les animaux ont été saignés et l'acide cyanhydrique dosé séparément dans les globules et le plasma

(ramenés au volume primitif de sang par du sérum physiologique).

Nous avons obtenu les résultats suivants :

	µg d'acide cyanhydrique par ml
Plasma	1,26
Hématies	3,55

Cette différence de répartition de l'acide cyanhydrique est d'ailleurs conforme aux résultats de Hug (119) sur le devenir de ce toxique dans l'organisme.

Production d'acide cyanhydrique in vitro par la MINA.

Nous avons ensuite recherché quelle était la vitesse de disparition in vitro de la MINA en contact avec des globules rouges ou du plasma, et quelle était la production concomitante d'acide cyanhydrique.

Nous avons pour cela ajouté 50 µg/ml de MINA à du plasma ou à une suspension globulaire (ramenée au volume initial du sang) après un temps donné de contact à 37°, l'oxime libre restante, ainsi que l'acide cyanhydrique formé, ont été dosés.

Ces essais avaient pour but, non seulement de déterminer quelle proportion d'acide cyanhydrique se forme dans les différentes fractions de sang, mais aussi de savoir si les sangs d'espèces animales différentes agissent de façon analogue sur la MINA. Nous avons en vue la possibilité, si tel avait été le cas, de prévoir in vivo la toxicité de la MINA par l'étude in vitro de sa métabolisation dans le sang d'une espèce où il n'est pas possible de procéder à une mesure directe de toxicité, en particulier chez l'homme, ce qui aurait pu faciliter l'adoption ultérieure de l'oxime pour la thérapeutique humaine.

La lecture des résultats (Tableaux IV et V) montre que le pourcentage de MINA qui disparaît pour des temps de contact correspondant à la durée d'action de la MINA, et qui est de 30 mi-

...

nutes à une heure environ chez tous les animaux, est faible au niveau des globules et non mesurable dans le plasma. On constate seulement au bout de 24 heures une baisse notable des quantités d'oxime retrouvées, ce qui ne peut représenter un mécanisme physiologique intervenant dans la métabolisation de la drogue dans l'organisme, puisque, comme nous le verrons, l'élimination est très rapide.

La vitesse de disparition de l'oxime dans les globules rouges des espèces testées n'est pas uniforme, mais elle n'est pas parallèle à la vitesse d'apparition de l'acide cyanhydrique, ce qui laisse supposer un autre mode de métabolisation que cette transformation.

Enfin, les quantités d'acide cyanhydrique retrouvées ne sont pas en corrélation avec l'activité de la MINA chez les différentes espèces. Nous avons tenté de résumer et de simplifier ces données dans le tableau suivant (VI) où sont comparées les DL 50 de la MINA, du cyanure de Sodium, et les taux d'acide cyanhydrique retrouvés au niveau des globules rouges dans l'expérience précédente, et ce, sur deux espèces dont l'une, le rat, est très sensible à la MINA, et dont l'autre, le cobaye, l'est assez peu.

Tableau IV.

Adjonction de 500 $\mu\text{g/ml}$ de MINA à une suspension globulaire ramenée au volume initial du sang. Température 37°.											
Espèce animale	Nombre d'animaux	Pourcentage de disparition de la MINA					HCN retrouvé en $\mu\text{g/ml}$				
		Temps en heures					Temps en heures				
		1	2	5	7	24	1	2	5	7	24
Rat	90	4,7	6,8	11,5	15,7	27	27	39	71	98	165
Cobaye	20	1,7	5,2	12	21,8	20,5	29	48	87	119	270
Chien	4	4,4	6,7	8,8	14	24	10	14	25	30	59
Chat	4	0,4	2,5	5,1	6,5	22	17	29	55	71	153
Lapin	4	0 ✕	0,2	2	3,5	17,5	14	21	35	44	92
Homme	4	0 ✕	0,5	5,3	7,7	17	18	28	60	77	110

Disparition de la MINA et production d'acide cyanhydrique dans les globules rouges de différentes espèces animales. Les ✕ indiquent qu'on est à la limite de sensibilité du dosage.

Tableau V.

Adjonction de 500 $\mu\text{g/ml}$ de MINA à du plasma ramené au volume initial du sang. Température 37°.									
Espèce animale	Nombre d'animaux	Pourcentage de disparition de la MINA				HCN retrouvé en $\mu\text{g/ml}$			
		Temps en heures				Temps en heures			
		1	5	7	24	1	5	7	24
Rat	90	0 ✕	0,8		7	3	6	7,6	12,8
Chien	6	0 ✕	0 ✕	1	1	2	4	5,5	8,5
Chat	4	0 ✕	0 ✕	0 ✕	0 ✕	2		3	6
Lapin	4	0 ✕	0 ✕	1	5,5	2	3,2	3,7	6,7
Homme	4	0 ✕	0 ✕	0 ✕	3	3			5

Disparition de la MINA et production d'acide cyanhydrique dans le plasma de différentes espèces animales.

Les ✕ indiquent qu'on est à la limite de sensibilité du dosage.

	DL 50 MINA (IP)	DL 50 CNNA (S.Cut)	Quantité d'HCN retrouvé dans 1 ml de suspension de G.R. après une heure de contact avec la MINA (500 µg/ml) en µg/ml
Rat	54 $\pm$ 5	3,53 $\pm$ 1	27
Cobaye	162 $\pm$ 10	3,28 (1)	29

Tableau VI. Comparaison des DL 50 de la MINA, du cyanure et des quantités d'HCN retrouvés dans les G.R. de deux espèces animales.

(1) Chiffre fournis par Paulet in : l'intoxication cyanhydrique et son traitement. Masson Edit.

Les autres valeurs résultent d'expériences personnelles.

On voit donc qu'il n'y a aucune commune mesure entre les valeurs des DL 50 de la MINA chez le rat et le cobaye, alors que les quantités d'HCN retrouvées sont, elles, très comparables. Il n'est pas possible par ailleurs d'expliquer la différence de sensibilité à la MINA par une sensibilité plus grande du rat à l'intoxication cyanée, puisque les DL 50 du cyanure sont du même ordre dans les deux espèces. On est donc amené à conclure que la toxicité de la MINA n'est pas entièrement due à l'acide cyanhydrique. Enfin, il ne semble plus possible de prévoir la toxicité de la MINA à partir des chiffres obtenus in vitro lors de sa métabolisation.

Détoxication spontanée de la MINA.

Les mesures effectuées ci-dessus ne donnent toutefois qu'un aperçu inexact de ce qui se passe dans un organisme quand on lui injecte de la MINA, car on sait que l'acide cyanhydrique produit est spontanément détourné, surtout par la voie de la transformation en sulfocyanures, sous l'action de la Rhodanèse de Lang (140).

Nous avons donc étudié, non plus seulement sur le sang, mais sur la totalité des tissus (sauf la peau) quelle est sur le rat la production globale d'acide cyanhydrique sous l'influence de

...

la MINA et quelle est sa vitesse de détoxication spontanée. Il est de cette façon possible de connaître avec exactitude les quantités totales d'acide cyanhydrique libérées par l'oxime et de savoir si la toxicité de cette dernière est bien due à ce poison.

Nous avons utilisé la technique suivante : des rats mâles de cinq semaines, de 90 à 100 grammes sont mis à la diète hydrique pendant 18 heures. On leur injecte ensuite, par voie I.P., de la MINA à la dose de 25 et 50 mg/kg, suivant les lots. Les animaux sont ensuite sacrifiés à différents temps, par section du bulbe puis dépouillés de leur peau (qui gêne le broyage). Le reste du corps est entièrement broyé dans un appareil Turmix préalablement refroidi pour éviter toute perte en HCN. On prend soin, pendant toute l'opération, que la température reste voisine de 0° dans le broyat. Le pH de ce dernier est ensuite ajusté, à l'aide de soude N/10, à une valeur finale de 7,7. Le temps de broyage est de trois minutes en tout. On complète le volume du broyat à 500 ml à l'aide d'eau distillée. Le délai compris entre la mort de l'animal et la mise en route du dosage est de 12 minutes en tout.

La quantité d'acide cyanhydrique libre est déterminée sur 4 ml du broyat par la méthode de Feldstein déjà décrite. Pour les sulfo-cyanures, on utilise une modification de cette méthode : 100 grammes du broyat sont acidifiés par 3 ml d'acide phosphorique N et sont portés 20 minutes à ébullition pour chasser l'acide cyanhydrique libre et détruire la rhodanèse. On défèque ensuite avec une solution saturée à chaud d'acide picrique (5 %). On refroidit, on complète à 150 ml et on filtre. On déplace ensuite l'HCN des sulfocyanures sur 4 ml du filtrat, acidifié par 0,5 ml de SO_4H^2 à 10 %, à l'aide de 0,5 ml de chromate de potassium à 20 %. Le dosage d'acide cyanhydrique est alors effectué.

Le fait que nous n'ayons pas pu broyer l'animal entier avec la peau pourrait être une cause d'erreur par défaut. Aussi avons-nous procédé séparément à des dosages d'HCN dans des lambeaux de peau de certains animaux. Nous n'avons retrouvé qu'une quantité

négligeable de ce produit. Par conséquent, nous avons estimé que le fait de dépouiller un rat de sa peau n'introduisait qu'une erreur minime et n'entachait pas la validité du dosage.

Tableau VII.

Animaux témoins (20)		HCN libre 0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$		Sulfocyanures 98 $\pm$ 25 $\mu\text{g}/100\text{ g}$	
Temps (en min.) après injection de MINA	MINA 25 mg/kg		MINA 50 mg/kg		
	HCN (en $\mu\text{g}/100\text{ g}$) libre	sulfocyanure	HCN (en $\mu\text{g}/100\text{ g}$) libre	sulfocyanure	
5	10,6	142	20,2	169	
15	15,4	166	25,4	200	
30	20,4	217	37,4	226	
45	22,3	196	42,2	253	
60	18,7	220	45,7	281	
90	14,6	233	48	302	
120	9,3	231	40,5	305	

Quantité totale d'acide cyanhydrique libre et sous forme de sulfocyanure, retrouvée sur des rats après administration de MINA.

...

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau VII et la figure 7 qui en est la traduction graphique.

On peut voir que, dans le cas d'administration de 25 mg/kg de MINA, la production d'acide cyanhydrique est maximale au bout de 30 à 45 minutes. Par contre, le taux de sulfocyanure augmente encore (sans doute jusqu'à la disparition totale de la MINA non métabolisée). Les mêmes phénomènes se retrouvent avec une dose administrée de 50 mg/kg, mais ils sont retardés dans le temps.

Les chiffres obtenus révèlent d'autre part que le taux maximum d'acide cyanhydrique trouvé est de $42,2 \mu\text{g}/100 \text{ grammes}$ d'animal, c'est-à-dire de $0,42 \text{ mg/kg}$, et ceci dans le cas de l'administration d'une dose de MINA de 50 mg/kg , c'est-à-dire d'une DL 50. Or ce taux de $0,42 \text{ mg/kg}$ est très nettement inférieur à celui de la DL 50 de l'acide cyanhydrique chez le rat que nous avons trouvé être de $3,53 \pm 1 \text{ mg/kg}$. Là aussi, on peut donc dire que la production d'acide cyanhydrique par la MINA ne semble pas expliquer totalement la toxicité de cette drogue ; nous trouvons donc une confirmation de l'hypothèse que nous avons avancée plus haut.

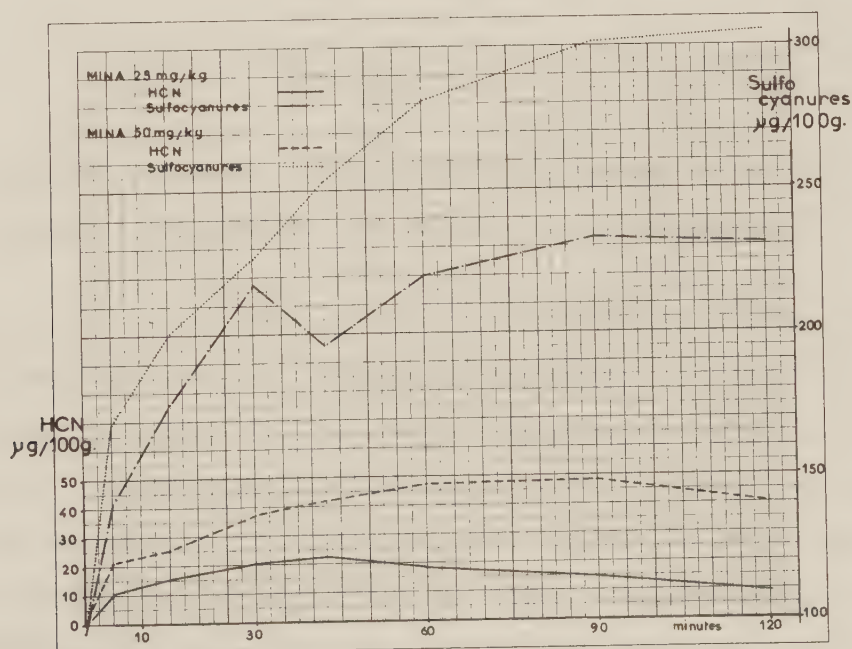


Figure 7. Représentation graphique du tableau VII.

Le point de départ des sulfocyanures est pris au niveau du taux moyen des sulfocyanures chez les animaux témoins ($98 \mu\text{g}$).

Atténuation de la toxicité de la MINA.

Même si l'acide cyanhydrique n'est pas tout dans la toxicité de la MINA, il est tout de même intéressant d'en réduire au maximum la nocivité. De tous les médicaments classiques dans l'intoxication cyanée, le plus utile nous a paru être l'hyposulfite, qui favorise la détoxification physiologique de l'acide cyanhydrique par la voie des sulfocyanures, procédé déjà mis en oeuvre naturellement par l'organisme. L'hyposulfite est d'autre part un produit dont la toxicité propre est faible, et l'utilisation aisée. Enfin, il est particulièrement bien adapté à la lutte contre la libération progressive à dose faible d'acide cyanhydrique, ce qui est précisément le cas au cours de la métabolisation de la MINA.

Nous avons obtenu, grâce à l'emploi de l'hyposulfite de soude, les résultats suivants :

DL 50 Souris IP de la MINA		184 $\pm$ 19 mg/kg
"	+ $S^2O^3Na^2$ 250 mg/kg après 3 min.	220 $\pm$ 15 mg/kg
"	$S^2O^3Na^2$ 500 mg/kg	290 $\pm$ 18 mg/kg

L'atténuation de la toxicité de la MINA est donc très nette et a le mérite d'avoir été obtenue par un produit non dangereux.

Nous avons également tenté de modifier la toxicité de la MINA en utilisant d'autres thérapeutiques de l'intoxication cyanée. Nous avons dans ce sens utilisé les Chélates de Cobalt (EDTA diCo et Histidine-Co) dont l'action semble pourtant très efficace (Paulet, 163). Mais ces produits ne nous ont pas donné de bons résultats comme atténuateurs de la toxicité de la MINA. Un exemple de l'utilisation des chélates de Cobalt sera donné dans la partie de ce travail consacré à la pharmacologie de l'oxime (fig. 47). On peut y voir que l'histidine-Cobalt a une action extrêmement brève, alors que

...

l'hyposulfite a une action de beaucoup plus longue durée. Il est possible que l'effet de complexation de l'acide cyanhydrique produit par la dose d'histidine-Co que nous avons injectée ait été épuisé rapidement, alors que la libération d'HCN se poursuivait. Le mécanisme de transformation en sulfocyanure est, lui, de beaucoup plus longue durée, donc plus efficace. Mais il n'est pas non plus interdit de penser que l'action de l'hyposulfite n'est pas entièrement due à son action anticyanure.

De même, l'emploi des méthémoglobinisants ne nous a donné aucun résultat significatif, bien que Askew, Davies et coll. (5) leur attribuent une action bienfaisante, ainsi que Coleman, Little et Grant (55). Il est vrai que ces derniers auteurs ont travaillé sur l'intoxication au Tabun, lui-même générateur d'acide cyanhydrique, ce qui peut expliquer partiellement les bons résultats qu'ils ont obtenus avec la MINA. Mais nous persistons à croire que les méthémoglobinisants sont en eux-mêmes des produits trop toxiques pour avoir une utilité réelle comme adjuvants de l'emploi de la MINA.

En conclusion, la question de la toxicité de la MINA est plus complexe qu'elle ne semblait au premier abord, et probablement due à des causes multiples, bien que la formation d'acide cyanhydrique soit indéniable et contribue sans doute pour une grande part à cette toxicité. Mais certaines des expériences qui ont été effectuées (comparaison des DL 50 avec la production d'HCN, dosage du taux de l'acide cyanhydrique libre, effet toxique de la MINA différent du point de vue symptomatologique de l'intoxication par le cyanure lui-même), conduisent à penser que d'autres phénomènes interviennent.

En tous cas, il est intéressant de pouvoir réduire la toxicité de la MINA, quelque soit le mécanisme d'action exact de l'hyposulfite, et lorsque nous avons utilisé dans nos essais de fortes doses de MINA, nous avons systématiquement employé cet antidote pour atténuer l'effet nocif de l'oxime employée seule.

Chapitre V. Métabolisme de la MINA.

Nous avons, dans cette partie de notre travail, étudié le devenir de la MINA, après injection par différentes voies, et son mode d'élimination et de destruction par l'organisme, de façon à envisager une éventuelle application thérapeutique, et aussi pour nous placer dans des conditions optimales lors de nos essais pharmacologiques sur l'animal.

Comme nous l'avons dit, l'étude de la métabolisation de la MINA est inséparable de l'étude de sa transformation partielle en acide cyanhydrique, aussi certains des résultats présentés ici sont-ils communs à ce chapitre et au précédent.

De même, les techniques employées pour le dosage de l'oxime ont déjà été décrites (chapitre IV) ; aussi n'y reviendrons-nous pas.

Etude du taux sanguin de la MINA.

a) Elimination de la MINA après injection intra-veineuse.

Nous avons utilisé des chiens de dix à quinze kilogrammes, anesthésiés au chloralose-uréthane, auxquels nous avons injecté, par la veine saphène, 35 mg/kg de MINA, c'est-à-dire 0,4 mM/kg de la drogue. Le taux d'oxime, et celui d'acide cyanhydrique, ont été mesurés dans le sang artériel prélevé par une canule placée dans une collatérale de l'artère fémorale, de façon à ne prélever que du sang circulant, pour que les dosages ne soient pas effectués sur du sang de stase, ce qui est une cause d'erreur dans les dosages effectués sur des prélèvements de sang veineux fait grâce à une canule veineuse placée à demeure.

L'oxime a également été dosée dans la bile, prélevée par un cathéter mis en place dans le cholédoque, et dans l'urine, obtenue par sondage vésical.

...

La courbe obtenue dans le sang (fig. 8) montre la disparition rapide de la MINA du sang. Cinquante pour cent de l'oxime sont éliminés en dix minutes.

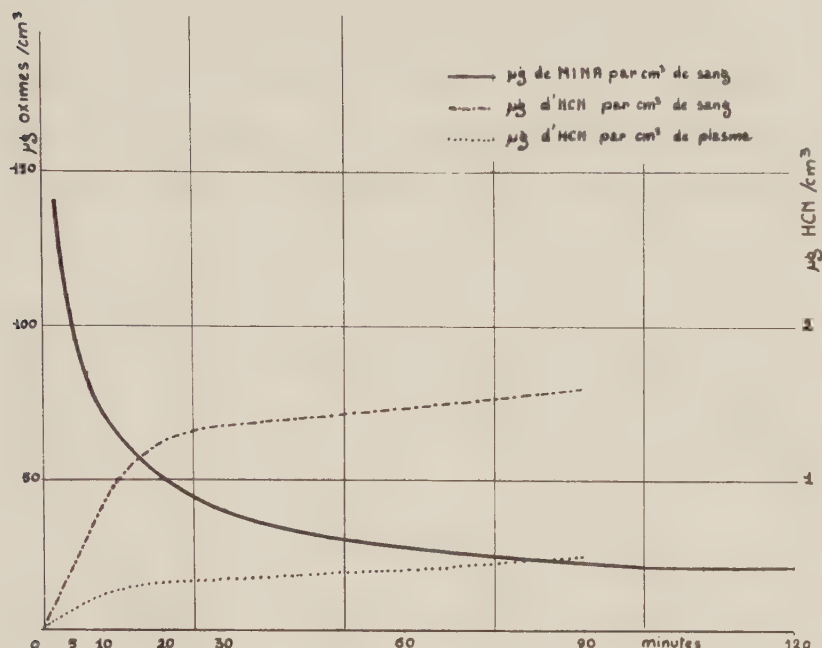


Figure 8 : Disparition de la MINA et production d'acide cyanhydrique après injection I.V. chez le chien.

La teneur en acide cyanhydrique, elle, croît inversement, et de façon très rapide au début, elle atteint un quasi-plateau en une vingtaine de minutes. Le taux maximum est de $1,7 \mu\text{g/ml}$ environ, ce qui représente $1,7 \text{ mg/l}$, en ce qui concerne les globules, le taux plasmatique étant beaucoup plus bas, comme nous l'avons dit, et de l'ordre de $0,5 \text{ mg/litre}$ au maximum.

L'élimination biliaire et urinaire peut être étudiée dans le tableau VIII.

On voit qu'elle est très faible pour l'un et l'autre émonctoire et peut même être considérée comme négligeable.

b) Résorption et élimination de la MINA après injection intra-musculaire.

Les mêmes méthodes de dosage ont été utilisées pour la voie intra-musculaire et pour la voie intraveineuse, toujours sur le chien. Mais, en fin d'expérience, nous avons prélevé les reins, pour vérifier si une partie de la MINA n'était pas restée dans le parenchyme rénal, et nous en avons tenu compte dans les résultats de deux heures. Le muscle fessier, où avait eu lieu l'injection, a été

également prélevé, et la présence éventuelle de produit non résorbé a été recherchée. En fait cette recherche a été négative dans tous les cas.

On retrouve (fig. 9), après l'injection I.M. de MINA, qui a eu lieu au temps zéro, un taux maximum d'oxime dans le sang qui est de $75 \mu\text{g/ml}$, soit approximativement la moitié de ce que l'on obtient par l'injection I.V. de la même quantité de MINA.

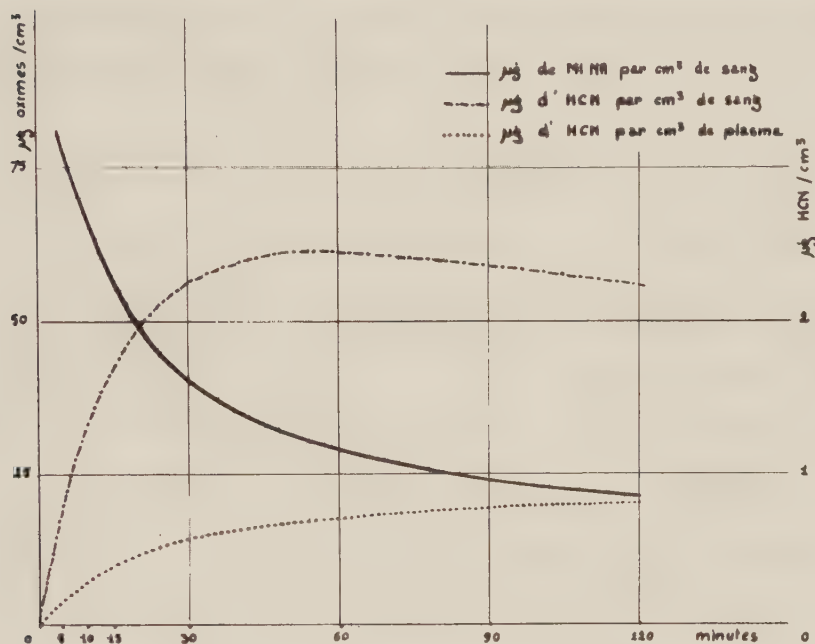


Figure 9 : Résorption et production d'acide cyanhydrique après injection intra-musculaire de la MINA.

Mais on doit remarquer que le maximum est atteint très rapidement, en fait dans les cinq minutes qui suivent l'injection. La MINA est donc un produit très diffusible à partir du muscle, et cette voie d'introduction peut se révéler particulièrement intéressante.

La vitesse d'élimination est toutefois légèrement retardée, par rapport à la voie I.V., mais le taux maximum, au bout de deux heures, est semblable, et se situe aux environs de $25 \mu\text{g/ml}$ de sang.

Les taux d'acide cyanhydrique du sang et du plasma sont également semblables à ceux obtenus dans la figure 8. Mais le taux maximum en HCN est plus élevé, il est de $2,4 \mu\text{g/ml}$, ce qui peut signifier que la métabolisation plus lente de l'oxime a pu favoriser sa transformation en acide cyanhydrique.

Quand aux résultats des dosages faits pour vérifier l'élimination biliaire et urinaire, ils sont donnés dans le tableau VIII. On peut y voir que cette élimination est aussi faible que dans le cas de l'injection intra-veineuse. Toutefois, le fait que la quantité de MINA retrouvée dans le parenchyme rénal a été ajoutée à celle recueillie dans l'urine en cours d'expérience explique que l'on trouve un chiffre d'élimination urinaire légèrement plus grand que dans l'essai précédent, au bout de deux heures : 0,88 % au lieu de 0,60 %. Mais l'élimination urinaire de la MINA reste quand même très faible.

Tableau VIII.

Temps d'excrétion en minutes	Quantité de produit excrété en pourcentage de la quantité injectée.		
	Bile	Urine	Total
	Injection intra-musculaire		
30	0,012	0,26	0,27
60	0,04	0,57	0,63
90	0,08	0,72	0,80
120	0,56	0,88	1,44
	Injection intra-veineuse		
30	0,02	0,19	0,21
60	0,05	0,38	0,43
90	0,09	0,50	0,59
120	0,10	0,60	0,70

Pourcentage d'élimination de la MINA par les voies biliaires et urinaires, chez le chien, après injection de 35 mg/kg.
Moyenne de trois chiens.

...

c) Résorption et élimination de la MINA après injection intra-péritonéale.

Nous étions, pour cette partie de notre travail, intéressés surtout par la question pratique de savoir si, pour nos essais sur les animaux, où nous employons souvent la voie intra-péritonéale, la MINA injectée se retrouvait dans le sang à concentration suffisante et n'était pas métabolisée par le foie.

Nous avons employé, pour cette étude, des cobayes, avec les modifications suivantes de la technique déjà utilisée, modifications rendues nécessaires par les difficultés pratiques de faire sur cet animal des prises de sang successives, en recueillant des quantités de sang suffisantes pour permettre les dosages. Ici, nous avons utilisé des lots de 10 cobayes, pesant entre 500 et 600 grammes. Chaque lot recevait par voie intra-péritonéale une dose de 87 mg/kg de MINA (1 mM/kg). Ensuite chaque lot était sacrifié à différents temps après l'injection, le sang du coeur recueilli, et le dosage de l'oxime effectué.

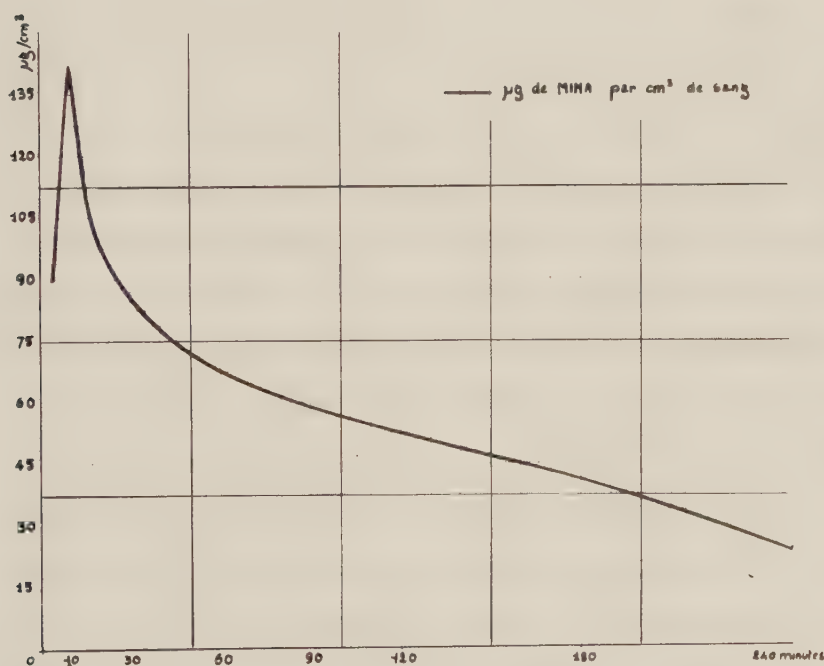


Figure 10 : Résorption et élimination de 87 mg/kg de MINA, injectés par voie intra-péritonéale chez le cobaye.

Les résultats sont donnés figure 10. On peut constater que l'oxime injectée passe très rapidement dans la circulation. Ce taux est de 140 µg/ml ; il est donc équivalent à celui que l'on trouve sur le chien après l'injection I.V. d'une dose de 0,4 mM/kg. Bien qu'il soit imprudent de comparer les métabolismes de deux espèces animales dif-

férentes, on peut penser qu'une certaine partie de la MINA injectée est détruite au niveau du foie.

Le taux sanguin retrouvé est cependant suffisant pour autoriser la voie intra-péritonéale comme voie d'administration usuelle, pour la commodité des expérimentations.

Niveaux de destruction de l'oxime.

Des présomptions existent donc de la destruction de la MINA au niveau du sang et du foie. Nous avons vérifié cette hypothèse par les essais suivants :

a) Nous avons mis en contact, à 38°, une quantité connue de MINA (100 μ g/ml) avec du plasma ou des hématies de chien ou de cobaye, ramenés au volume initial par du sérum physiologique. Au bout d'un temps d'incubation de deux heures, en aérobiose, la quantité d'oxime restante était dosée.

b) D'autre part, si la MINA est probablement détruite par le foie, comme nous l'avons vu, on peut aussi penser que d'autres tissus ont aussi cette action. A cet égard, il est intéressant de savoir si, au niveau du système nerveux, l'oxime n'est pas métabolisée : l'action pharmacologique qui s'y manifeste (chap. IX) pourrait être due en réalité à des produits de dégradation, plus qu'à l'oxime elle-même. Nous avons donc recherché si ces deux tissus, foie et cerveau, ne réagissaient pas sur la MINA in vitro. Mais pour cela, il fallait éliminer la possibilité d'une action par le sang restant dans les vaisseaux des organes étudiés. Nous avons donc utilisé des cobayes anesthésiés, sur lesquels nous avons installé une perfusion de sérum physiologique par l'aorte, avec évacuation par l'oreillette droite sectionnée. La perfusion, poussée par une pompe péristaltique sous une pression de 10 cm de mercure, était continuée jusqu'à ce que le liquide évacué par l'oreillette ne contienne plus aucune trace de sang. Le foie et le cerveau étaient alors prélevés, broyés avec de l'eau distillée, le broyat filtré sur étamine, puis une partie aliquote en était prélevée, et, additionnée d'une quantité connue de MINA, servait à vérifier la

consommation de l'oxime au bout d'un temps donné.

Tableau IX.

		Pourcentage de disparition		
Température d'incubation		Cobaye	Lapin	Chien
Plasma	38°	0	0	0
Globules rouges	38°	10	3	12
Cerveau (aérobiose)	38°	0		
Cerveau (anérobiose)	28°	0		
Foie (aérobiose)	38°	18		
Foie (anaérobiose)	28°	15		

Métabolisation de la MINA dans différents tissus in vitro.

A ces essais sur le foie et le cerveau de cobaye, nous avons ajouté des mesures faites sur le plasma et les globules rouges de lapin et de chien.

Nos résultats (Tableau IX) montrent bien que seuls les globules rouges et le foie sont capables de métaboliser la MINA, ce qui confirme nos hypothèses formulées plus haut, et localise la production d'acide cyanhydrique à ces organes, excluant donc le cerveau, où la MINA doit agir en elle-même, à moins que l'acide cyanhydrique libéré dans le sang soit responsable d'une partie des actions pharmacologiques que nous verrons plus tard. Mais le fait que ce toxique ne se libère pas sans la présence de globules rouges a pour nous une conséquence importante : Nous verrons qu'on peut légitimement se demander si certains des effets de la MINA sont dûs à l'oxime elle-même, ou à l'acide cyanhydrique ; la question pourra être tranchée aisément chaque fois qu'on pourra reproduire ces effets in vitro, en dehors de la présence de sang.

...

Il resterait à trouver l'enzyme ou les systèmes enzymatiques responsables de la destruction de la MINA. Nous avons pensé à la cholinestérase vraie, sur laquelle la MINA pourrait se fixer (Green et Smith, 1955). Mais le fait qu'aucune disparition ne se produise au niveau du tissu cérébral, pourtant riche en cholinestérase, ne justifie pas cette hypothèse, et actuellement, nous ne pouvons encore rien dire sur le système responsable de la métabolisation de la MINA.

Chapitre VI : La MINA et le système nerveux autonome.

L'action de la MINA dans les intoxications par organophosphorés révèle une très nette stabilisation des troubles provoqués par ces toxiques au niveau des systèmes nerveux ortho et parasympathiques. Il est donc possible que la MINA ait une action directe sur ces formations. Aussi avons-nous commencé l'étude de la pharmacologie de l'oxime par la recherche de ses potentialités sur les systèmes autonome et leurs médiateurs.

1 - Action de la MINA sur le système parasympathique.

Nous avons vu en particulier que l'atropine potentialise l'action de la MINA comme antidote des intoxications par anticholinestérasiques. On ne peut pas exclure à priori que l'oxime ait elle-même une action anticholinergique (comme le TMB4 par exemple). Il était donc intéressant de rechercher si la MINA n'avait pas un antagonisme direct avec l'acétylcholine, et une action parasympatholytique.

Nous avons dans ce but utilisé plusieurs techniques classiques :

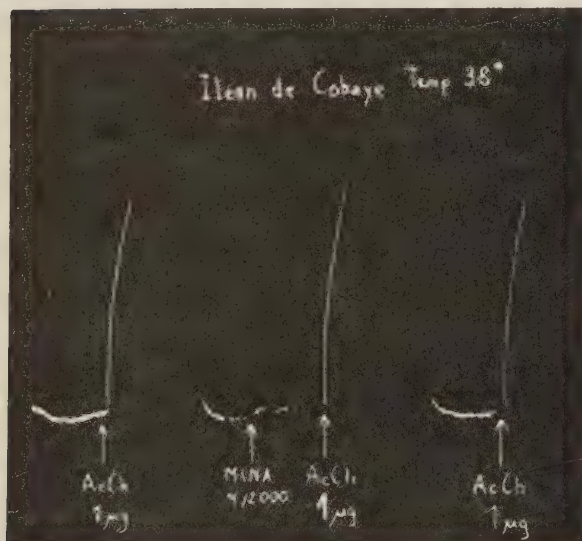


Figure 11 : absence d'antagonisme de la MINA vis-à-vis de l'acétylcholine sur l'iléon isolé de Cobaye.

a) Intestin isolé de Cobaye : comme on peut le voir sur le tracé de la figure 11, la MINA n'a aucun effet sur la contracture provoquée par l'acétylcholine sur l'iléon de cobaye, même à des concentrations plus fortes que celle que nous avons employée ici.

Une quelconque présomption d'effet anticholinergique de la MINA semble donc peu probable. Nous avons confirmé ce fait par l'étude de

...

l'antagonisme, sur la pression artérielle du rat, de l'hypotension produite par l'acétylcholine. Nous n'avons pas non plus vu d'effet de l'oxime sur ce test.

b) Stimulation du bout périphérique du pneumogastrique.

Pour juger d'une éventuelle action parasympholytique de la MINA, nous avons ensuite testé l'action de l'oxime sur l'effet de la stimulation du bout périphérique du nerf vague chez le chien. Mais là non plus aucune action de l'oxime ne s'est révélée.

La MINA, sur trois expériences complémentaires, n'a donc montré aucun pouvoir anticholinergique. Il ne faut donc pas chercher là une explication des propriétés assez particulières de cette oxime dans le traitement des intoxications par organophosphorés.

2 - Action de la MINA sur le système orthosymphathique.

A vrai dire, l'action cardiovasculaire de la MINA est essentiellement dépressive, elle n'évoque donc pas du tout l'effet d'un produit purement atropinique. La MINA s'oppose nettement aux phénomènes d'ordre nicotinique qui se produisent dans la première phase de l'intoxication par les inhibiteurs de cholinestérase, et qui se traduisent, sur le plan de leur mécanisme d'action, par une hyperactivité passagère du système orthosymphathique, (par stimulation des ganglions à transmission cholinergique de ce système, avec libération périphérique d'adrénaline). On peut donc concevoir, puisque la MINA est capable de s'opposer à ces phénomènes, qu'elle a un effet antagoniste vis-à-vis de l'action α de l'adrénaline, ou qu'elle est capable d'inverser l'effet de ce médiateur, ou encore qu'elle est un sympatholytique, (l'hypothèse d'une action ganglioplégique est à exclure, chap. VII).

Nous avons employé pour éclaircir cette question les techniques suivantes :

a) Pression artérielle du rat. Nous avons tenté de supprimer par la MINA, ou d'inverser, les effets hypertenseurs de

...

l'adrénaline et de la noradrénaline. La MINA n'ayant montré aucune action, il ne semble pas qu'elle soit un bloqueur α , tout au moins sur ce test.

b) Exophtalmie du rat : nous avons alors mesuré l'exophtalmie du rat, anesthésié au chloral, après excitation du nerf sympathique cervical. Cette exophtalmie est enregistrée à l'aide d'un dispositif optique, composé d'un miroir fixé sur un palpeur placé lui-même sur l'oeil, et d'un suiveur de spot Sefram. Nous avons aussi utilisé un ultradynamomètre Physiocontrol relié à un enregistreur à plume.

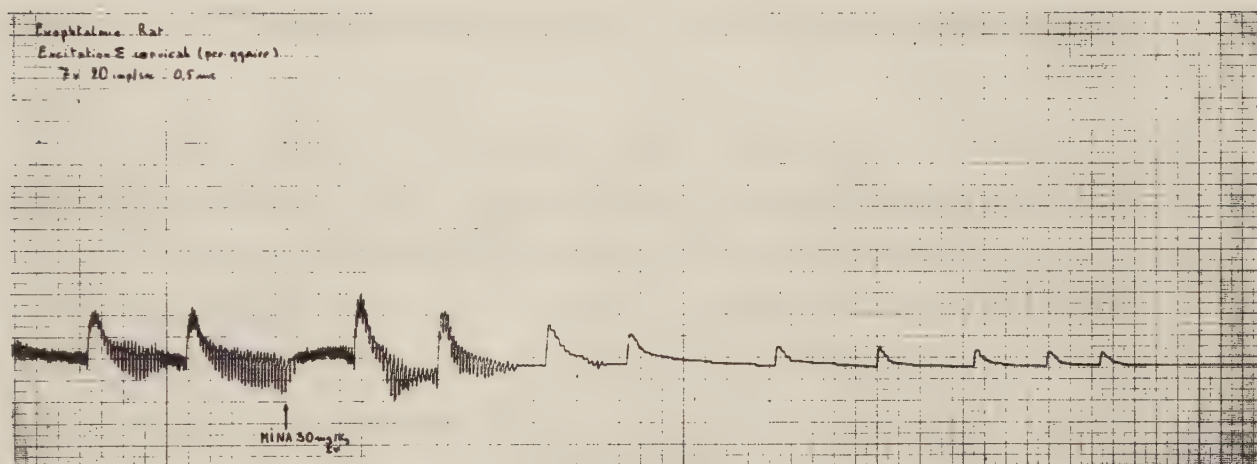


Figure 12 : Action de la MINA sur l'exophtalmie du rat provoquée par stimulation du sympathique cervical.

La stimulation du sympathique cervical provoque une protrusion de l'oeil, (l'équivalent, chez le rat albinos, d'une mydriase), qu'on peut considérer comme une manifestation de la libération périphérique d'adrénaline. Les paramètres de stimulation utilisés doivent être les suivants : trains d'ondes rectangulaires de 1 ms de durée, avec une fréquence de 20 par seconde, et une durée de salve de 10 secondes. Le voltage exigé doit être supra-maximal, voisin de 5 à 8 volts.

Un exemple des résultats obtenus avec cette technique est donné dans le tracé de la figure 12. L'action de la MINA est ici

très nette. Toutefois, il n'est pas possible d'exclure totalement une intervention secondaire de l'acide cyanhydrique libéré par la métabolisation de l'oxime, l'expérience étant faite sur un animal in toto.

c) Membrane nictitante du chat. Nous avons employé également le test classique de la membrane nictitante du chat, toujours avec stimulation du sympathique cervical et enregistrement par ultradynamomètre. Ce test est d'ailleurs sur le chat l'équivalent du précédent sur le rat, et il a d'ailleurs la même signification. Il nous a donné les mêmes résultats, avec une diminution nette de la contraction sous l'influence de la MINA.

La MINA semble donc dans ces cas posséder un effet α bloquant.

Le fait que la stimulation ait lieu au niveau du sympathique cervical, donc qu'elle soit relayée dans le ganglion cervical supérieur n'est pas à prendre en considération, car nous montrerons (Chap. VII) que la MINA n'a pas d'action ganglioplégique. Mais il est troublant que l'on ne constate pas d'antagonisme direct avec l'adrénaline (§ a). Une autre hypothèse est alors à vérifier, celle de savoir si la MINA ne freine pas la libération du médiateur orthosympathique, et dans des conditions où l'acide cyanhydrique, ou bien une dépression du tonus sympathique d'origine centrale, provoquée par la drogue elle-même, ne peut intervenir. Or cette dernière hypothèse n'est nullement à écarter à priori. Nous avons donc choisi un essai in vitro.

d) Déférent isolé de Cobaye : nous avons fait appel à la technique décrite par Hukovic (120) d'enregistrement des contractions du déférent isolé de cobaye, prélevé avec son innervation. La figure 13 donne un exemple des résultats obtenus. Il semble qu'une légère action sympatholytique de la MINA soit présente, mais elle n'est pas très puissante sur ce test.

...

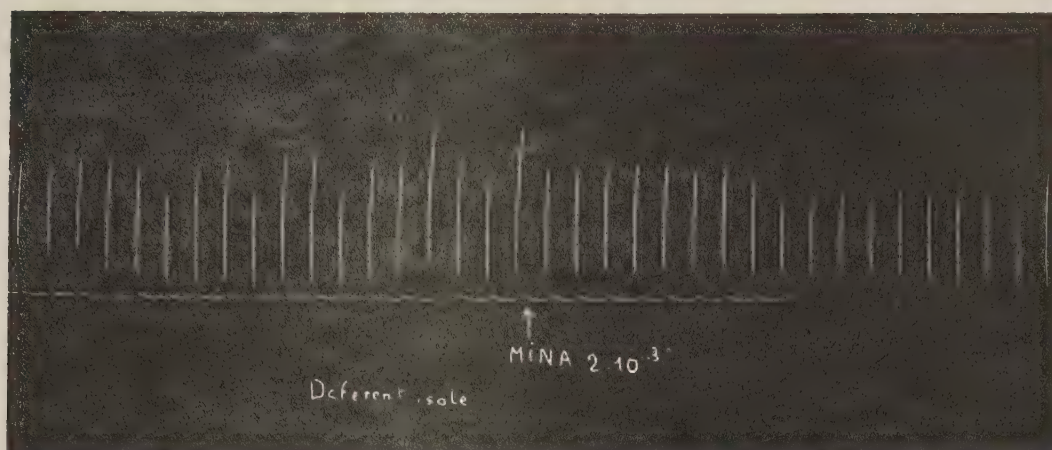


Figure 13 : Légère action sympatholytique de la MINA sur le déférent isolé du Cobaye isolé avec son innervation, stimulé par des ondes rectangulaires à 10 cycles par seconde, supramaximales suivant un rythme de 10 secondes toutes les deux minutes. Le bain de survie est du Mac Ewen à 38°.

Cette dernière technique rejoint donc quant à ses résultats nos constatations précédentes sur la pression artérielle du rat, et n'est pas en faveur d'une action de blocage α .

e) Action de la MINA sur les effets β de l'adrénaline.

Nous avons voulu, bien que ces essais ne soient pas indispensables à priori, vérifier si la MINA ne pouvait pas agir sur les effets dépresseurs de l'adrénaline. Pour cela nous nous sommes adressés à l'intestin isolé de cobaye (fragment isolé de jéjunum, traité selon le procédé classique dans un bain de Tyrode à 38°).

Nous avons employé, pour provoquer l'inhibition des mouvements péristaltiques de l'intestin, une dose d'adrénaline de 1,5 μ g pour un volume du bain de 50 ml (Fig. 14).

On voit que l'action propre de la MINA sur la musculature lisse est très faible. L'effet inhibiteur de l'adrénaline n'est pas du tout supprimé à la concentration utilisée, ni à la concentration doublée de M/1000. On peut donc rejeter un effet β bloquant de la MINA.

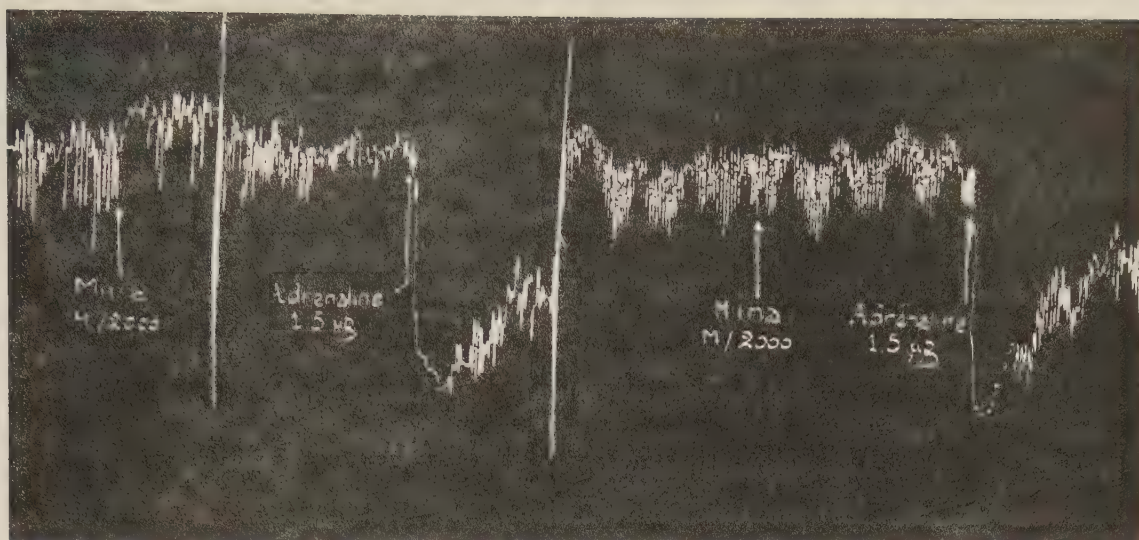


Figure 14 : Absence d'effet antiadrénalinique β de la MINA sur les effets inhibiteurs du médiateur sur l'intestin isolé de cobaye. Les interruptions verticales du tracé sont provoquées par les lavages.

f) La conclusion qu'on peut tirer de cette partie de notre travail est ambiguë : il n'y a pas d'antagonisme direct de la MINA avec les médiateurs orthosympathiques, mais d'autre part, dans les cas où l'on utilise une réponse des nerfs sympathiques, on observe une action beaucoup plus nette ; il est vrai qu'une grande partie de celle-ci semble être d'origine toxique ou centrale ; toutefois, elle s'observe encore plus faiblement dans les situations où ces deux mécanismes sont exclus.

Or nous verrons que la MINA possède incontestablement le pouvoir de bloquer la synthèse de la noradrénaline au niveau du système nerveux central (Chap. XIV). Il semblerait donc normal que cette action ait lieu aussi au niveau des terminaisons nerveuses sympathiques. Il faut donc expliquer que cette action ne se révèle que dans certaines circonstances, et soit d'assez faible amplitude dans certains cas. On pourrait penser que si la MINA bloque la synthèse de la noradrénaline à la périphérie, ce qui semble probable, il faut, pour voir cesser l'action de la stimulation, que le blocage de la synthèse soit total d'une part, ce qui n'est certainement pas le cas, et que d'autre part, les stocks de médiateurs

soient épuisés. Ces stocks existent sous la forme de granules très riches en noradrénaline (Von Euler 78) dans les organes et les transmissions nerveuses adrénergiques. La situation serait alors semblable à ce qui se passe pour les nerfs cholinergiques où on ne peut obtenir de blocage visible de la transmission, après inhibition de la synthèse ou de la libération de l'acétylcholine, qu'après épuisement des réserves par une stimulation intense et de très longue durée (Mac Intosh, 122, Longo, 146). Il est donc possible que si nous n'avons pas obtenu avec la MINA un effet plus marqué de blocage de la transmission sympathique, c'est que nous n'avions pas épuisé les réserves de médiateur.

Cependant, une telle explication demeure assez lointaine, et ne peut rendre compte de la rapidité de l'action de la MINA sur la tension artérielle, qui est presque instantanée. Il nous faudra donc trouver une autre explication pour ce phénomène, ainsi que pour l'annulation de la composante nicotinique des organophosphorés.

3 - MINA, sérotonine et histamine.

Dans les intoxications par les anticholinestérasiques, une composante histaminique a pu être mise en évidence par Chary (46) : il s'agit de l'action potentialisatrice du Tabun et du Sarin sur le bronchospasme produit par l'histamine. Cette potentialisation est même supérieure en intensité à celle provoquée par ces toxiques sur l'effet de l'acétylcholine. Il semble qu'une explication à ce phénomène puisse être trouvée dans le travail de Fotino (85) sur la potentialisation réciproque de l'histamine sur l'acétylcholine, qui suppose une action des deux médiateurs sur les mêmes récepteurs.

Dans la même optique, nous avons essayé de voir si une interaction du même type ne se produisait pas entre l'acétylcholine et la sérotonine, dont on sait qu'un certain nombre d'effets sur les muscles lisses sont semblables. On peut voir une illustration du bien fondé de cette hypothèse dans la figure 15, qui montre

Halpern, et à celle de Bathacharia et Delaunois.

Un exemple des résultats obtenus avec ce dispositif est montré dans la figure 16. On peut y voir que le bronchospasme provoqué par l'histamine (et qui se traduit par un pincement du tracé, contrairement à ce qui se passe dans le système de Halpern) n'est pas influencé par la MINA.

On peut donc conclure à une absence d'action antihistaminique de l'oxime. Le fait que dans cet essai, effectué avec un aérosol d'histamine, le bronchospasme ait été très intense et de longue durée, donc susceptible de masquer une efficacité modérée de la MINA, ne doit pas servir d'argument, car les résultats sont les mêmes dans le tracé de la figure 17, effectué dans des conditions moins sévères, à l'aide d'injection intraveineuses d'histamine, qui ne provoquent qu'une constriction modérée et brève des muscles bronchiques.

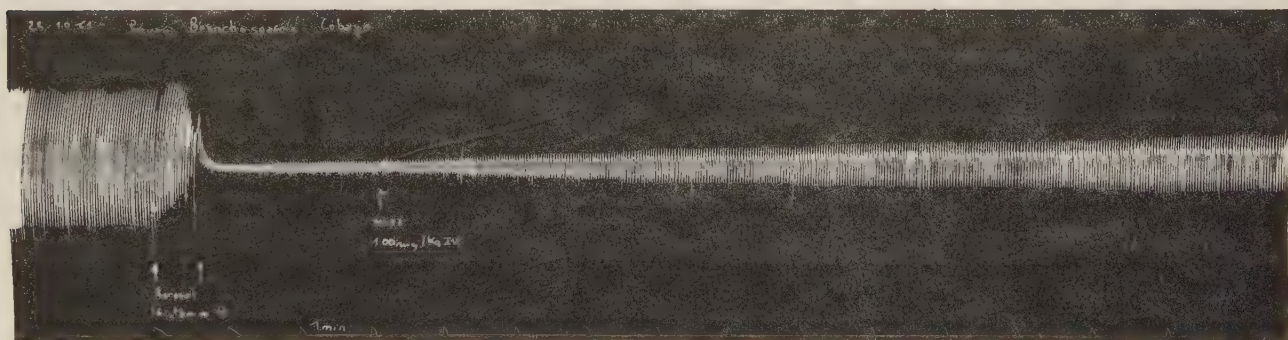


Figure 16 : Absence d'action antihistaminique de la MINA sur un bronchospasme provoqué par inhalation d'un aérosol d'histamine à 1 % pendant 30 secondes.

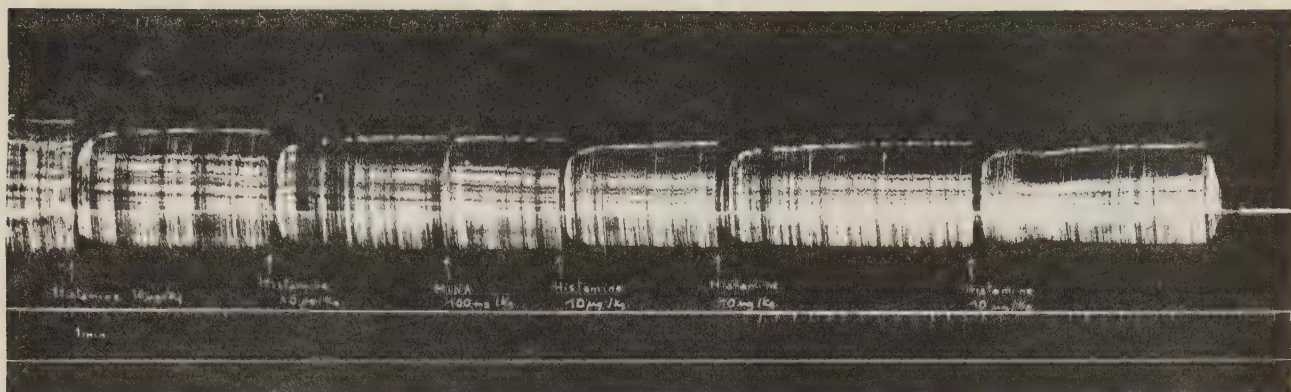


Figure 17 : Même absence d'effet de la MINA vis-à-vis de l'histamine injectée par voie intra-veineuse.

5 - Action de la MINA sur la sérotonine.

Il nous restait à examiner l'influence éventuelle de la MINA sur la sérotonine. Là aussi nous avons utilisé plusieurs techniques complémentaires.

a) Coeur de Vénus mercenaria. Nous avons d'abord employé pour mettre en évidence l'effet de la 5HT, le coeur de ce mollusque dont on sait la sensibilité à la sérotonine (Welsh, 202). Le coeur isolé dans de l'eau de mer à la température ambiante présente des contractions rythmiques qui diminuent peu à peu d'amplitude, puis cessent tout à fait. L'adjonction au bain d'une quantité aussi faible que 10 nanogrammes par millilitres de sérotonine fait repartir les contractions (qui sont enregistrées à l'aide d'un capteur de déplacement optique sur un suiveur de spot Sefram). La MINA (figure 18) manifeste là une action très nette et bloque l'effet de la sérotonine.

Mais, si le coeur de Venus mercenaria est intéressant comme réactif de la sérotonine, en ce sens qu'il est un des rares organes sur lequel la 5 HT a des effets inverses de ceux de l'acétylcholine, il n'en est pas moins assez éloigné des tissus des mammifères. Aussi avons-nous utilisé d'autres tests sur ces derniers animaux, en vue de confirmer le premier antagonisme net que

nous trouvions à la MINA.

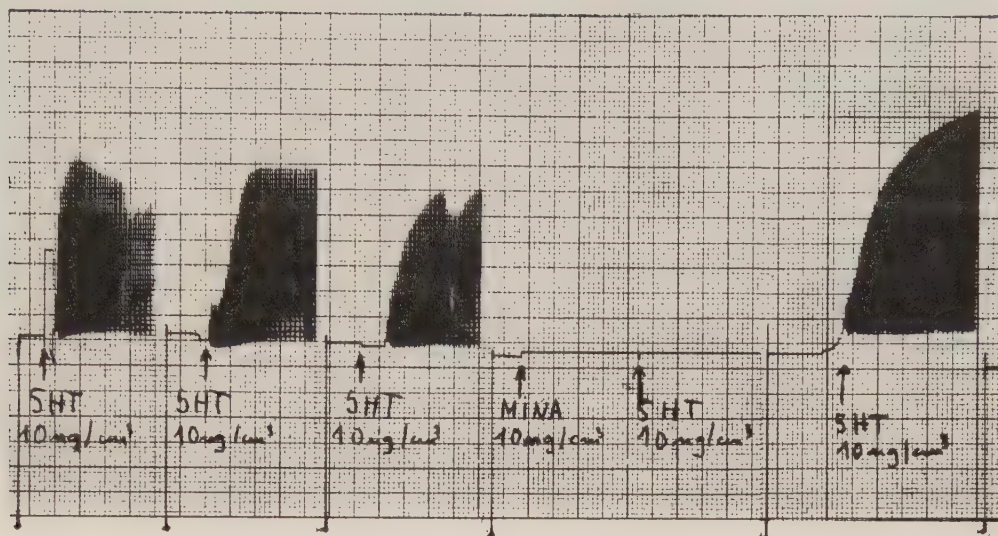


Figure 18 : Antagonisme de la MINA sur la sérotonine sur le coeur isolé de Venus mercenaria. Les quantités de sérotonine ajoutées au bain de 10 ml d'eau de mer sont de 10 nanogrammes/ml, et pour la MINA de 10 microgrammes/ml. Les déflexions du tracé vers le bas sont provoquées par les lavages.

b) Utérus de ratte ovariectomisée, en oestrus artificiel. La technique utilisée ici est celle d'Erspamer (77). Les résultats sont donnés dans la figure 19. On peut y voir que la MINA, à la dose de 200 $\mu\text{g/ml}$ diminue la contracture provoquée par 6 nanogrammes par millilitre de sérotonine. Avec une dose de MINA de 400 $\mu\text{g/ml}$, cette contracture est diminuée des deux tiers.

c) Pression artérielle de rat. La sérotonine, injectée par voie intraveineuse sur le rat chez qui on mesure la pression artérielle carotidienne, provoque une chute de pression (Fig. 20). La MINA, bien que provoquant elle-même une hypotension, abolit presque complètement cette action de la 5 HT.

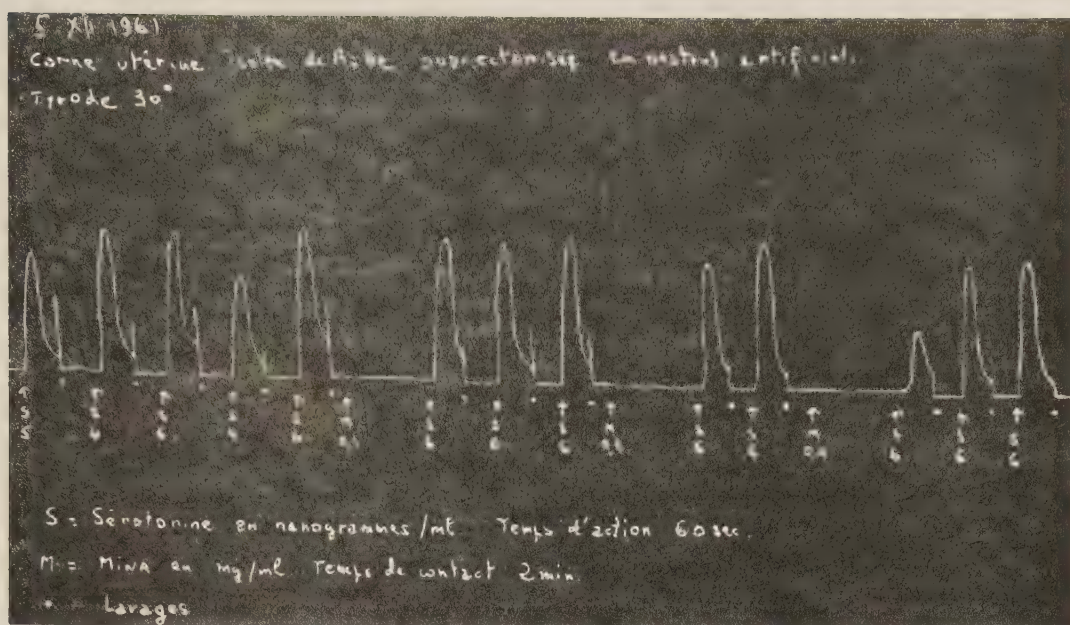


Figure 19 : Antagonisme de la MINA et de la sérotonine sur la contracture de la corne utérine de ratte ovariectomisée.

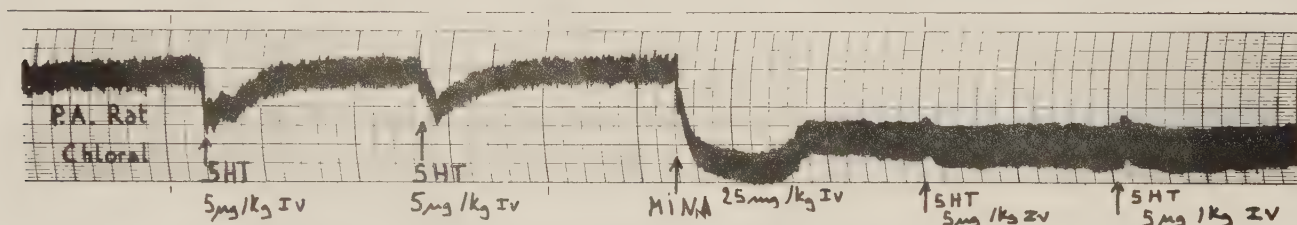


Figure 20 : Antagonisme de la MINA et de la sérotonine sur la pression artérielle de rat. La dose de sérotonine utilisée est de 5 μ g/kg ; celle de MINA de 25 mg/kg.

d) Oedème de la patte de rat. La sérotonine, injectée sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du rat, provoque un oedème qu'on peut ensuite mesurer par pléthysmographie, ce qui constitue un test classique de l'étude des substances inflammatoires (Eckart et coll., Théobaldt et coll., Rowley et coll., in Marcy, 153).

Nous avons appliqué cette technique à la mesure de

...

l'activité antisérotonine de la MINA. Les chiffres suivants ont été obtenus :

- Moyenne (sur 10 rats) des volumes de la patte avant l'injection de sérotonine (en $\text{cm}^3 \pm$ erreur standard) $1,08 \pm 0,8$
- Après injection de $0,1 \mu\text{g}$ de sérotonine dans la patte (dans $0,1 \text{ ml}$ de sérum physiologique) $1,51 \pm 0,18$
- Après injection de $0,1 \mu\text{g}$ de sérotonine + $0,2 \text{ mg}$ de MINA dans $0,1 \text{ ml}$ de sérum. $1,21 \pm 0,15$
(test effectué sur la patte contralatérale à la première injection).

Si l'on tient compte que, dans l'injection de MINA, le volume de liquide support est doublé par rapport à celui de l'injection de la sérotonine seule, on voit que l'action antisérotonine de la MINA se trouve confirmée sur cette action assez particulière de la sérotonine (les chiffres obtenus sont significatifs du point de vue statistique).

La MINA possède donc bien une action antisérotonine nette, bien que moins spectaculaire sur les mammifères que sur le coeur de mollusque, mais cependant incontestable et confirmée par plusieurs tests. Il reste à savoir si cette action intervient dans l'effet thérapeutique de la MINA sur les organophosphorés. Or des essais que nous avons effectué d'autre part montrent qu'un antagoniste aussi puissant de la sérotonine que l'UML 491 n'a pas d'effet mesurable sur la toxicité du sarin. Il serait donc étonnant que l'action beaucoup plus limitée de la MINA intervienne pour beaucoup dans ses propriétés thérapeutiques. Par contre, comme nous le verrons, une telle intervention des propriétés anti-sérotonine de la MINA n'est pas à exclure dans l'explication des propriétés de l'oxime au niveau du système nerveux central.

Chapitre VII. Action cardio-vasculaire de la MINA.

Nous avons vu dans le chapitre III que la MINA était capable de s'opposer efficacement et avec une grande rapidité aux manifestations cardio-vasculaires de type nicotinique qui ont lieu dans les intoxications par les organophosphorés.

L'explication de cet effet de la MINA est difficile : il n'y a pas d'action immédiate de la MINA sur le système orthosympathique responsable de l'hypertension ; la rapidité de la baisse tensionnelle provoquée par la MINA rend également difficile à accepter l'idée qu'il s'agisse d'une réactivation de la cholinestérase ganglionnaire, dont l'inhibition est à l'origine des manifestations nicotiniques.

Aussi peut-on penser que la MINA est douée d'une action directe sur des récepteurs inconnus de la musculature vasculaire. En fait, on constate que l'injection de MINA sur un animal non intoxiqué provoque bien une chute de tension de l'ordre de quelques centimètres de mercure. Cette baisse tensionnelle est transitoire, de durée variable suivant les espèces animales, en général de l'ordre d'une dizaine de minutes.

Il est donc intéressant de voir si l'action de la MINA se retrouve vis-à-vis de drogues hypertensives. Nous avons choisi la nicotine à cause de sa similitude d'effet avec les organophosphorés, bien que le mécanisme en soit différent. Mais si la chute de pression due à la MINA et que nous avons vue avec les organophosphorés se retrouvait avec la nicotine, la preuve d'une action pharmacologique spéciale de la MINA serait ainsi faite.

Nous avons donc étudié l'interaction MINA-nicotine sur la pression artérielle du rat, animal particulièrement favorable car chez lui la réponse à la nicotine est de très longue durée. Nous avons pris la précaution, à cause des phénomènes de tachy-

phylaxie que provoque la nicotine, de procéder toujours à nos observations lors d'une injection primitive de nicotine, et jamais lors d'une réinjection.

Les résultats de ces essais ont incontestablement montré un antagonisme de la MINA et de la nicotine. Un exemple en est montré dans le tracé de la figure 21. Il s'agit d'un enregistrement de tension artérielle du rat, faite avec un manomètre optique de Franck dont l'inertie très faible, et la période propre élevée, permettent mieux que le manomètre à mercure l'enregistrement fidèle de la différentielle.

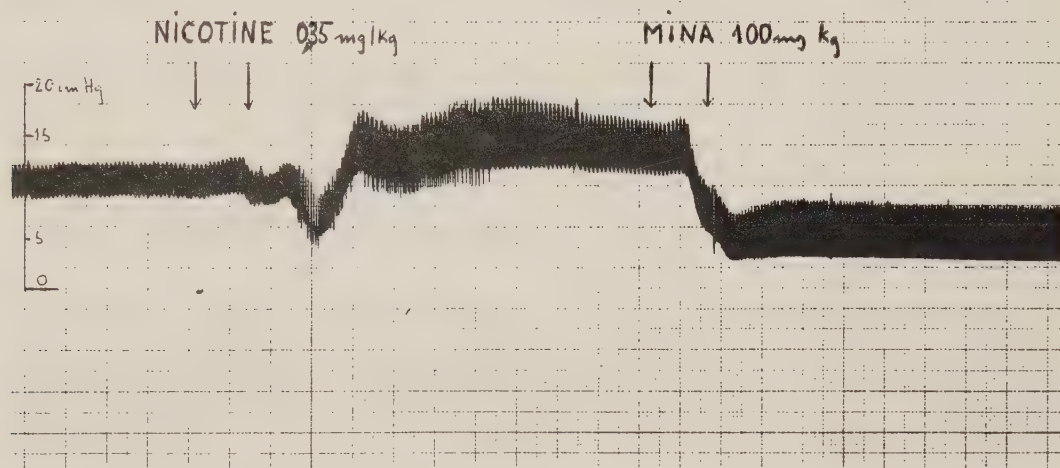


Figure 21 : Action antinicotinique de la MINA sur la pression artérielle du rat, enregistrée à l'aide d'un manomètre optique de Franck.

On constate aisément sur ce tracé que l'hypertension induite par la nicotine est immédiatement supprimée par la MINA ; la pression retombe même à une valeur inférieure à la valeur de départ.

Ces résultats ont été confirmés sur le chien, et on peut donc considérer que la MINA est capable, sans doute par un mécanisme propre sur les fibres lisses vasculaires, de combattre les manifestations hypertensives dues à la nicotine, de même que les phénomènes excitoganglionnaires d'autre origine.

...

Action de la MINA sur la toxicité de la nicotine.

Avant d'aller plus loin dans l'analyse de l'action cardiovasculaire de la MINA, il convient de se demander si l'antagonisme ainsi mis en évidence s'étend à la toxicité de la nicotine.

Nous avons donc mesuré l'influence de la MINA sur la DL50 de la nicotine sur le rat. Dans ces essais, une mesure de la DL 50 du produit de référence a été faite d'abord. Puis dans un deuxième temps, on a procédé à une autre évaluation avec une injection, après un intervalle d'une minute, du deuxième produit devant s'opposer à l'effet du premier.

Nous avons obtenu les chiffres suivants :

DL 50 Nicotine (s. cut.)	62 $\pm$ 8 mg/kg
-----------------------------	------------------

DL 50 Nicotine + MINA 25 mg/kg (I.P.)	41 $\pm$ 6 mg/kg
--	------------------

Il n'y a donc pas d'antagonisme de la MINA et de la nicotine sur la toxicité de cette dernière. Et réciproquement nous obtenons :

DL 50 MINA (I.P.)	54 $\pm$ 5 mg/kg
-------------------	------------------

DL 50 MINA + Nicotine 12,5 mg/kg (s. cut.)	45 $\pm$ 6 mg/kg
--	------------------

La nicotine est donc également incapable de réduire la toxicité de la MINA. Il y a en fait addition des toxicités. Le fait qu'on ne retrouve pas dans cette épreuve l'opposition des deux drogues qui se manifeste sur la tension artérielle fait penser que, dans ce dernier cas, la MINA n'a qu'une action symptomatique sur les manifestations vasopressives de la nicotine, et qu'il ne s'agit pas d'une compétition vraie au niveau des récepteurs sur lesquels agit l'alcaloïde.

...

Recherche d'une action ganglioplégique de la MINA.

On peut penser que l'abolition des effets hypertensifs de la nicotine résulte d'une action ganglioplégique de la MINA.

Nous avons recherché si cette hypothèse était exacte en utilisant, plutôt que les techniques classiques d'étude des ganglioplégiques (transmission dans le ganglion cervical supérieur du chat ou du lapin), qui donnent un résultat indirect, par l'intermédiaire d'un effecteur périphérique de nature différente de la synapse ganglionnaire, un procédé électrophysiologique : l'enregistrement des potentiels post-ganglionnaires du ganglion mésentérique inférieur du lapin. L'anatomie de cette partie du système nerveux sympathique du lapin a été décrite dans une publication de Brown et Pascoe (39). Ce ganglion a l'avantage sur le ganglion cervical supérieur de posséder de très longues fibres pré et post-synaptiques ; la stimulation préganglionnaire, et l'enregistrement des réponses des fibres C post-ganglionnaires en est rendu très facile.

Les résultats d'une de ces expériences sont donnés dans la figure 22. On y a combiné l'enregistrement de la tension artérielle carotidienne obtenue grâce à un manomètre à mercure sur un tambour enregistreur, avec l'enregistrement des potentiels post-ganglionnaires recueillis sur l'écran de l'oscilloscope cathodique d'un appareillage de neurophysiologie, le balayage horizontal du spot étant arrêté et le déplacement vertical photographié sur un film à déroulement continu ; de ce fait, les potentiels de fibres C sont réduits à une trace verticale. Les stimulations préganglionnaires sont faites à un voltage supramaximal, à la cadence d'un choc (onde rectangulaire de 1 ms) toutes les dix secondes.

On peut voir que la MINA (injectée par voie I.V.) si elle a bien produit une chute de la tension artérielle, n'a pas fait varier l'amplitude des potentiels post-ganglionnaires, alors que les ganglioplégiques du genre hexaméthonium les abolissent rapidement et complètement à dose active. Il n'est donc pas possible de

...

conclure à une action de ce genre pour la MINA.

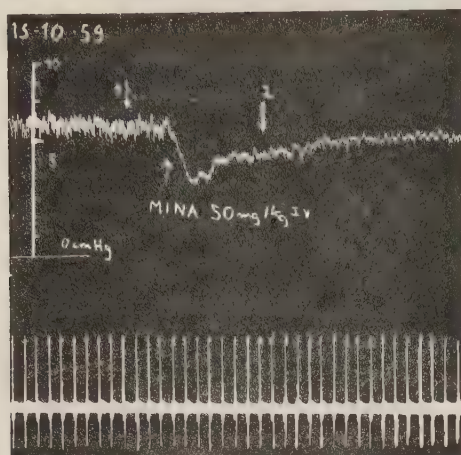


Figure 22 : Absence d'action ganglioplégique de la MINA. En haut : enregistrement de la tension artérielle carotidienne ; en bas : report sur le tracé précédant de l'enregistrement des potentiels post-ganglionnaires du ganglion mésentérique inférieur du lapin, évoqués par stimulation des fibres pré-ganglionnaire. Le signal visible sous la forme d'un trait blanc épais sous l'enregistrement des potentiels correspond à l'intervalle de 1 à 2 sur le tracé de pression artérielle.

Analyse de l'action hypotensive de la MINA.

Après élimination de la possibilité d'un effet ganglioplégique de la MINA, il faut attribuer à cette drogue, ou bien une action directe sur le tonus vasculaire, ou bien une action centrale sur les centres régulateurs de la vasomotricité. Nous nous sommes employés par des sections étagées du tronc cérébral, à localiser le point d'impact éventuel de la MINA dans la deuxième de ces hypothèses.

a) Chat cécérébré. Nous avons d'abord, pour éliminer une éventuelle action de l'oxime sur les régions diencephaliques et hypothalamique, procédé selon la technique classique de Sherrington à une décérébration intercolliculaire sur des chats (figure 23).

...

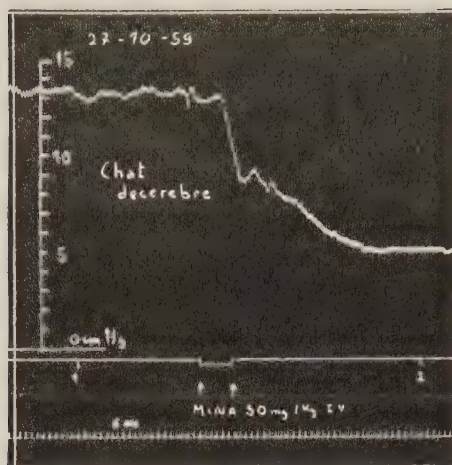


Figure 23 : Action de la MINA sur la pression artérielle du chat décérébré.

L'injection de la MINA provoque, dans ces conditions, une réponse hypotensive qui semble même s'effectuer en deux temps. Ceci exclut donc une participation des centres supérieurs à cette baisse tensionnelle.

b) Chat spinal. Pour exclure alors l'influence de la MINA sur la formation réticulée, nous avons pratiqué une section de la moelle sous-bulbaire, au niveau de l'articulation occipito-atloïdienne, l'animal étant placé sous respiration artificielle et réchauffé. Les résultats sont donnés dans la figure 24.

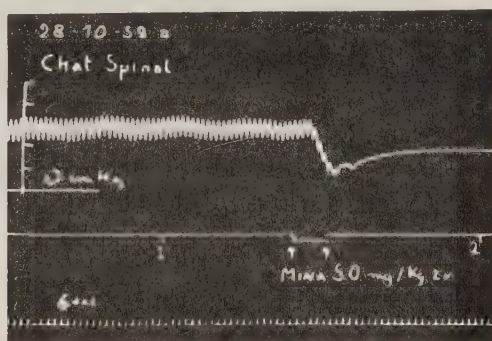


Figure 24 : Action de la MINA sur la pression artérielle du chat spinal. La pression est enregistrée à la fémorale.

On voit que, bien que la pression artérielle du chat spinal soit déjà basse, la MINA garde son effet ordinaire et

...

provoque une chute supplémentaire de cette pression. Toutefois cette baisse ne se produit qu'en un temps. Il se peut donc qu'une certaine participation réticulaire ne soit pas à exclure.

c) Chien sans moelle. Il restait à supprimer l'influence des centres vasomoteurs cellulaires. Nous avons donc utilisé la technique de Hermann du chien sans moelle, sur un animal anesthésié au chloralose, avec enregistrement de la tension artérielle et du pneumogramme (figure 25).

Là aussi, malgré la pression déjà très basse de cette préparation, la MINA garde son action hypotensive, qui est même beaucoup plus pure que sur les animaux normaux, les mécanismes correcteurs de la tension n'intervenant pas.

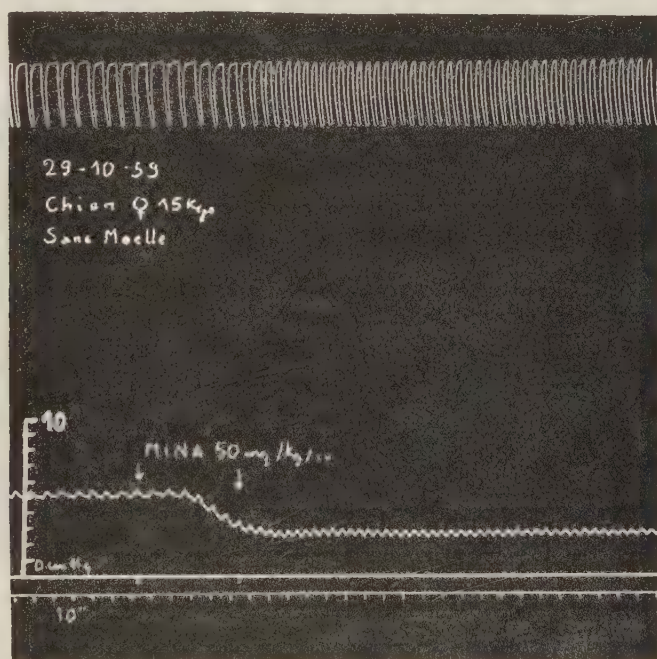


Figure 25 : Action de la MINA sur la pression artérielle du chien sans moelle.

On doit noter dans cette expérience l'accélération respiratoire très nette et immédiate après l'injection de la drogue.

d) Rat surrénalectomisé. Enfin, nous avons éliminé la possibilité de l'intervention d'une éventuelle sécrétion continue

...

d'adrénaline par les surrénales, hypothèse défendue par certains auteurs (Tournade et Chabrol) qui expliquent le maintien d'un certain tonus vasculaire par ce mécanisme.

Nous avons pris pour cet essai des rats femelles que nous avons surrénalectomisés des deux côtés, et à qui nous avons enregistré la pression artérielle. Le choix de cet animal se justifie par le fait qu'il est très sensible à la MINA et que la surrénalectomie est chez lui particulièrement facile.

Les résultats (figure 26) montrent que dans ce cas également, la MINA garde son action vasodilatatrice.

Il n'y a donc pas intervention dans la chute de pression provoquée par l'oxime de la suppression d'une libération tonique d'adrénaline.

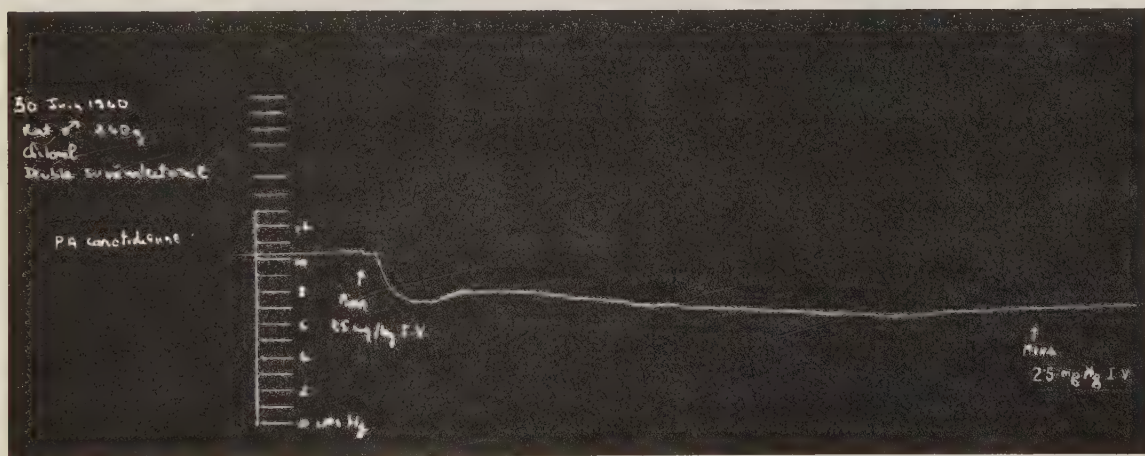


Figure 26 : Action de la MINA chez l'animal surrénalectomisé.

Après ces sections étagées du névraxe, et la suppression d'une source de tonus vasculaire, on est bien obligé de conclure à une action propre de la drogue sur la musculature vasculaire, et éventuellement sur le muscle cardiaque, car on peut constater sur la plupart de nos tracés une diminution très nette du rythme des battements cardiaques. Il ne nous restait plus qu'à en donner la démonstration directe.

Action vasodilatatrice de la MINA.

Nous avons donc utilisé plusieurs techniques classiques pour mettre en évidence l'action directe de la MINA sur la vasomotricité périphérique.

a) Oreille isolée du lapin. Cette préparation est faite de la manière préconisée par Savini (181), l'oreille étant perfusée par du liquide de Green et Page (in Savini, 181), injecté dans l'artère centrale, alors que le liquide effluent est recueilli par la tranche de section de l'oreille, et son débit mesuré par un compte-goutte électronique et un totalisateur enregistreur (figure 27).

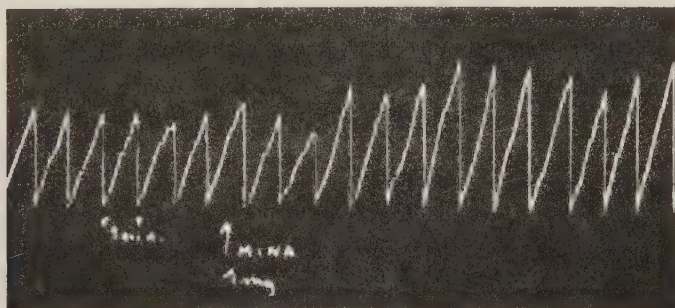


Figure 27 : Action vasodilatatrice de la MINA
sur l'oreille isolée de lapin.

Cette expérience est donc une confirmation de l'action vasodilatatrice de la MINA, puisque l'injection dans le liquide de perfusion de 1 mg de MINA a déclenché une augmentation du nombre de gouttes recueillies, donc une augmentation du calibre des capillaires de l'oreille. Ce test convient pourtant classiquement mieux pour mettre en évidence des actions vasoconstrictrices que des actions vasodilatatrices. Aussi l'avons-nous doublé par la recherche de l'action de la MINA avec un autre procédé de mesure de la motricité vasculaire.

b) Pléthysmographie de la patte du chien. Nous avons eu ici recours à la technique de Binet et Burstein (17), après exclusion par arrachement de la chaîne sympathique lombaire, et section des ners sciatique et crural. La drogue injectée l'a été dans une

collatérale de l'artère fémorale. La pression artérielle était enregistrée au niveau de la carotide.

Avec cette technique, il est nécessaire de prendre de grandes précautions lors de l'administration de la substance à essayer ; en particulier, l'injection doit être lente, et la solution utilisée doit être à une température de 37°. Ces précautions ayant été prises, le résultat suivant a été enregistré (figure 28) : l'effet vasodilatateur de la MINA est très net pour une dose injectée de 5 mg. Cette dose étant trop faible pour agir sur la pression artérielle globale, comme on peut le constater sur l'enregistrement de celle-ci, il ne peut s'agir que d'une action locale sur la musculature lisse des vaisseaux de la patte, donc de la mise en évidence d'une action vasodilatatrice pure.

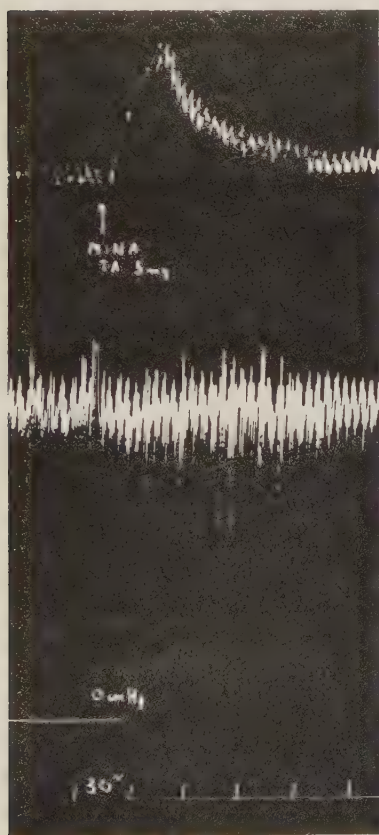


Figure 28 : Action de la MINA sur la pléthysmographie de la patte du chien isolée au point de vue nerveux.

Tracé du haut : pléthysmographie de la patte.

Au milieu : pression artérielle carotidienne
La MINA est injectée dans une collatérale de l'artère fémorale à la dose totale de 5 mg.

On peut donc considérer que la chute de tension due à la MINA lors de son injection par voie générale est constituée pour une bonne partie par une action directe sur la musculature des vaisseaux. Il doit sans doute en être de même dans la suppression de l'effet hypertensif de la nicotine et probablement dans les intoxications par les organophosphorés.

Mais nous n'avons pas exclu totalement une participation de la formation réticulaire qui, en effet est déprimée par la MINA, comme nous le verrons plus loin. Aussi il est très probable que dans l'action globale de la MINA sur la tension intervienne à la fois, et pour se renforcer, l'effet vasodilateur, la dépression du tonus réticulaire et l'effet modérateur cardiaque que nous allons voir maintenant.

Action de la MINA sur le coeur.

La composante cardiaque de l'action circulatoire de la MINA est certainement de grosse importance, et de plus, elle peut intervenir dans les possibilités thérapeutiques de l'oxime, soit en s'opposant aux effets des toxiques eux-mêmes, soit en corrigeant certains des effets indésirables des autres modes de traitement, par exemple en corrigeant la forte tachycardie provoquée par l'atropine, qui est souvent nuisible, car elle demande à un coeur plus ou moins anoxique, dans le cas d'apnée ou de bronchospasme, un effort trop considérable qui peut déclencher une fibrillation.

Nous avons donc examiné en détail l'action cardiaque de la MINA en utilisant plusieurs méthodes qui se recoupent.

a) Oreillette isolée de cobaye.

Nous avons utilisé la technique classique avec enregistrement sur noir de fumée, l'oreillette étant placée dans un bain de Tyrode très oxygéné à 38°. La MINA, à doses étagées, provoque (fig. 29) un effet inotrope négatif important, sans effet chronotrope visible. Cette action de la MINA est réversible par lavage ; elle n'est pas supprimée par l'atropine ; on la retrouve pour des concentrations de 10^{-4} M.

...



Figure 29 : Action inotrope négative de la MINA
sur l'oreillette isolée du cobaye.

b) Coeur isolé de Cobaye.

Nous avons utilisé une technique dérivée de celle de
Lagendorf (139) mais modifiée (P. Foulhoux, 87), en employant ici
comme liquide de perfusion du Mac Ewen (80).

Un exemple de tracé obtenu avec cette technique, sous
l'action de la MINA, est donné dans la figure 30.

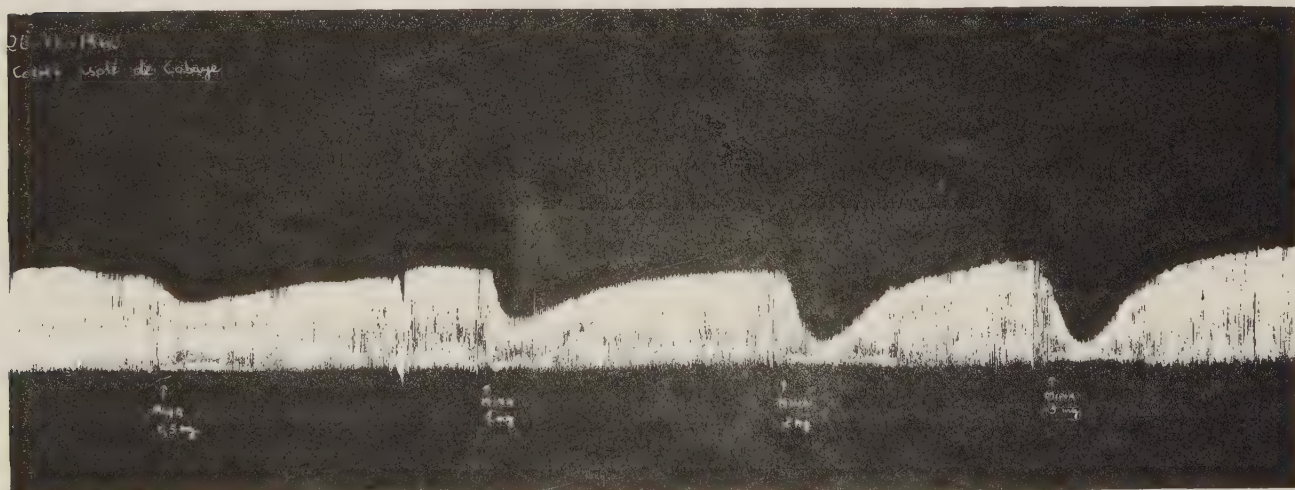


Figure 30 : Action de la MINA sur le coeur isolé de cobaye.

On voit que des doses croissantes de MINA, (injectées
dans la canule de perfusion en amont des coronaires), provoquent
un effet inotrope négatif proportionnel aux doses injectées, ce qui

confirme les résultats précédents.

c) Action de la MINA sur l'innervation cardiaque parasympathique. Nous savons déjà (chap. IV, fig. 6) que la MINA n'a pas d'action sur l'excitation vagale, même à doses toxiques, comme nous savons qu'elle n'a pas d'effet atropinique (chap. VI). Cette absence d'effet parasympholytique est constant, et a pu être confirmé tout au long de notre travail sur tous les organes, y compris le coeur.

d) Action de la MINA sur l'innervation cardiaque orthosympathique.

Nous avons utilisé ici la technique de Della Bella et coll. (67) qui permet d'isoler le coeur de cobaye avec son innervation. Nous avons simplement adjoint au dispositif utilisé pour l'étude du coeur isolé une paire d'électrodes en acier inoxydable, qui permettent la stimulation des nerfs cardiaques, sous la couche d'huile de parafine. Les paramètres de stimulation adoptés sont : salves de courants rectangulaires de 1 ms de durée, au rythme de 30 par seconde, pendant 10 secondes, avec un voltage supramaximal, de l'ordre de 10 volts en général.

Deux publications de Di Maggio et Felix (148), travaillant sur une oxime, l'isonitrosocamphre, qui semble avoir des propriétés voisines de celles de la MINA sur la circulation, avaient attiré notre attention sur le fait que ce produit est capable de s'opposer aux effets cardiaques de l'adrénaline et de la noradrénaline. Bien que n'ayant pas constaté d'effet de ce genre lors de notre expérimentation sur l'action de la MINA envers les médiateurs chimiques, nous avons tenu à vérifier l'action de cette drogue sur l'activité cardiaque du système sympathique, ce que la technique de Della Bella permet de faire facilement (figure 31).

Nous avons, dans cette expérience, stimulé les nerfs cardioaccélérateurs avant et pendant une perfusion de MINA, à la dose

de 10 mg/litre dans le liquide de perfusion.

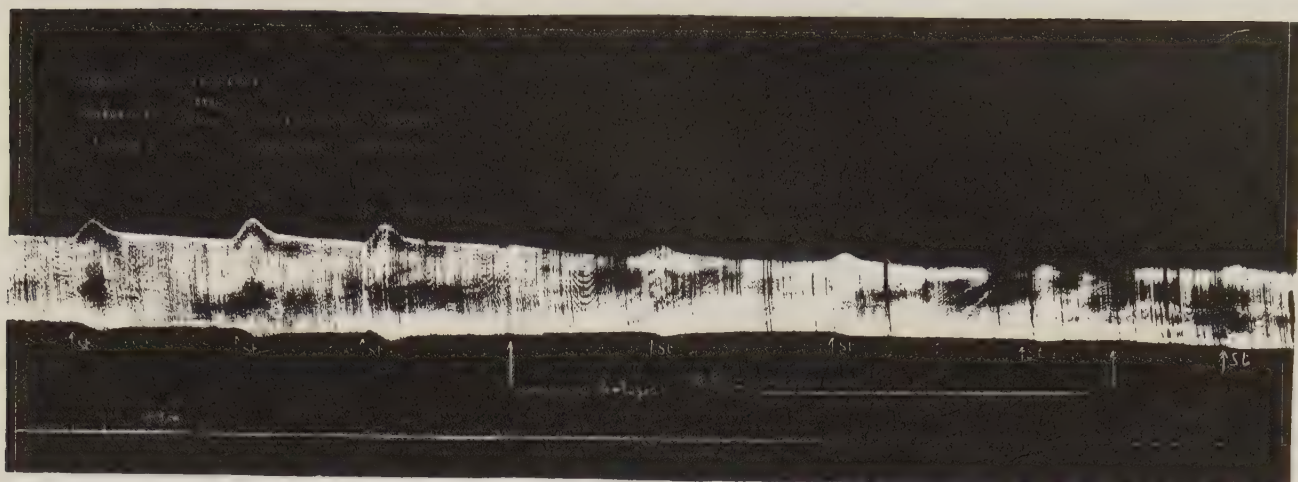


Figure 31 : Action de la MINA sur la stimulation du sympathique cardiaque, sur le coeur isolé de cobaye muni de ses nerfs.

L'effet de la MINA se traduit par une diminution de l'amplitude du tracé, mais on constate en plus une diminution relative de l'effet de la stimulation des nerfs sympathiques, bien que l'on n'obtienne pas une suppression complète de cet effet.

On retrouve donc une situation analogue à celle devant laquelle nous nous trouvions sur le déférent isolé de cobaye, avec une efficacité relative de la MINA sur la libération du médiateur orthosympathique. Il est vraisemblable que la même explication peut être donnée, c'est-à-dire que l'épuisement du stock synaptique de noradrénaline n'est pas suffisant pour laisser clairement apparaître l'effet de la MINA sur le blocage de la synthèse de ce corps.

Une autre remarque s'impose à propos de ces essais in vitro : on pourrait être tenté d'attribuer l'action de la MINA à l'acide cyanhydrique sur le coeur de l'animal entier ; mais dans les essais in vitro, nous avons vu que cette possibilité n'existe pas ; une propriété spécifique de la MINA elle-même se trouve donc mise en évidence.

Toutefois, du point de vue cardiaque, le mécanisme de diminution de l'activité orthosympathique ne doit intervenir que

faiblement ; essentiellement, l'effet de la MINA semble être une action dépressive qui se manifeste sur les fibres musculaires cardiaques. Nous avons donc une situation semblable à celle qui existe au niveau des vaisseaux.

Enfin, il faut signaler que l'action dépressive cardiaque de la MINA est spécifique de cette oxime, et n'est pas une propriété de ce groupe chimique, puisqu'une action tonicardiaque du PAM a au contraire été signalée.

Etude électrocardiographique de l'action de la MINA.

a) Electrocardiogramme global.

Nous avons d'abord procédé sur le rat à l'étude des modifications du tracé électrocardiographique classique, enregistré en dérivation D2, sur l'animal anesthésié. Les doses de MINA utilisées ont varié de 10 à 50 mg/kg, administrées par voie intra-veineuse. Il s'agissait donc dans ce dernier cas de doses toxiques. En fait, les doses faibles ne provoquent pas de modifications visibles du tracé, en dehors d'un abaissement de fréquence.

Mais, à partir de 25 mg/kg, on voit apparaître des altérations morphologiques, en plus de la bradycardie, qui est sinusale dans un premier temps. Ces altérations portent essentiellement sur l'onde T qui devient plus grande et souvent diphasique. Il s'agit donc d'une modification de la repolarisation cellulaire.

Pour des doses toxiques de MINA, le tracé devient complètement perturbé, avec deux types d'altérations : dans le premier (fig. 32, III), le rythme cardiaque est irrégulier avec apparition d'extrasystoles, superposées aux modifications morphologiques ; dans le deuxième type, le rythme reste régulier (fig. 32 IV), mais l'allure de l'électrocardiogramme devient irrécognaisable, avec une très grande onde T, diphasique, qui se prolonge jusqu'à l'arrivée du complexe suivant et même empiète sur lui.

Ces modifications sont toutefois réversibles sous l'influence de l'hyposulfite de soude. Par contre, nous avons échoué à les faire régresser grâce à l'emploi de tétracémate de Cobalt ou de vitamine B 12a. La pathogénie de ces bouleversements est donc assez complexe, bien que la libération d'acide cyanhydrique par la MINA intervienne vraisemblablement dans leur formation.

Nous avons donc tenté d'éclaircir et de préciser l'action cardiaque de la MINA en étudiant l'effet de l'oxime au niveau des cellules cardiaques elles-mêmes, grâce à des enregistrements intracellulaires de l'activité électrique cardiaque.

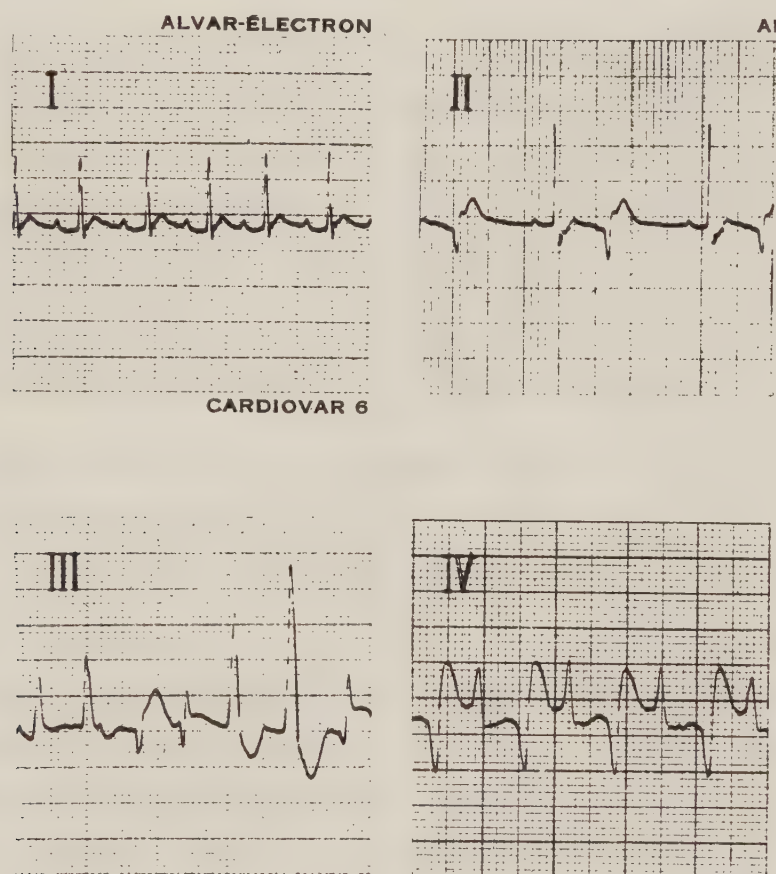


Figure 32 : Aspects électrocardiographiques de l'action de la MINA.

I : Tracé normal de l'enregistrement en dérivation D2 sur le rat, à la vitesse de 50 mm/seconde.

II : Effet de 25 mg/kg de MINA, 30 minutes après l'injection.

III : Tracé obtenu lors de l'intoxication par 50 mg/kg de MINA, 30 minutes après l'injection.

IV : Autre tracé obtenu dans les mêmes conditions.

b) Electrogramme intra-cellulaire.

Nous avons employé pour enregistrer l'activité électrique des cellules cardiaques la technique décrite par Coraboeuf (57, 58), utilisant des microélectrodes flottantes ; pour cela nous avons fait appel au montage préconisé par Benoît, à l'aide d'un très fin cathéter de polyéthylène (14).

Dans un premier temps, nous avons travaillé sur le coeur de rat isolé, perfusé grâce au dispositif décrit plus haut et légèrement modifié pour permettre une présentation du coeur dans une position horizontale. Le mécanogramme était, dans ce cas, enregistré à l'aide d'un capteur à jauges de contrainte.

Cette première étape nous a permis de vérifier l'action de la MINA en elle-même, puisque nous travaillions in vitro. Dans ces conditions (tracé de la figure 33), nous avons pu voir que l'effet de la drogue porte bien sur la phase de repolarisation du potentiel d'action cellulaire, qui est allongé et dont la pente est moins verticale. En même temps, le voltage du potentiel diminue, comme la force contractile enregistrée sur le mécanogramme.

Nous avons alors comparé l'effet de la MINA à celui du cyanure de potassium, ajouté au bain de perfusion, à forte concentration, (2,5 mg/litre). L'image obtenue montre, dans la plupart des cas, un effet différent sur la phase de repolarisation, qui est allongée en deux temps, avec un changement de pente, une sorte de cassure, au cours de cette phase. Il ne nous est pas possible de préciser la signification exacte de cette différence (si tant est qu'il y en ait une) mais on peut trouver là une indication qui permet de penser à une différence dans l'action intime de la MINA et du cyanure sur les métabolismes cellulaires (figure 34).

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'électrogramme intracellulaire sur le rat anesthésié, thoracotomisé et sous respiration artificielle, en utilisant le même dispositif que ci-dessus.

Toutefois, nous avons remplacé l'enregistrement du mécanogramme par celui de l'électrocardiogramme classique en dérivation D2 (figure 35). Notre but était de comparer là encore les images données lors de l'intoxication par la MINA et par le cyanure.

Nous avons retrouvé en gros les mêmes phénomènes que dans les essais in vitro, avec un aspect légèrement différent de la phase de repolarisation, suivant que l'on emploie la MINA ou le cyanure en perfusion lente au rythme de 100 $\mu\text{g/kg/minute}$. Mais il est difficile et imprudent d'essayer de préciser ce qui, dans l'effet sur les cellules cardiaques de la MINA, revient à l'oxime elle-même ou à l'intoxication cyanée. Toutefois, dans l'intoxication aiguë par le cyanure (5 mg et 2,5 mg/kg) et dans les perfusions lentes avec des concentrations élevées de cyanure (500 $\mu\text{g/litre}$ et 1 mg/litre) nous n'avons jamais observé l'apparition d'images anormales; on obtient simplement une diminution du potentiel très marquée, avec une bradycardie sévère, bientôt suivie de l'arrêt cardiaque qui survient en quelques minutes. Il semble donc que l'apparition d'images anormales avec des troubles de la repolarisation ne puisse s'obtenir que s'il y a eu anoxie cellulaire d'assez longue durée. Il y a probablement dans ce cas des modifications assez importantes du chimisme membranaire et cellulaire. Ce point reste à préciser, mais nous verrons que la MINA peut, aussi bien que les ions CN, mais indépendamment d'eux, agir sur la respiration cellulaire.

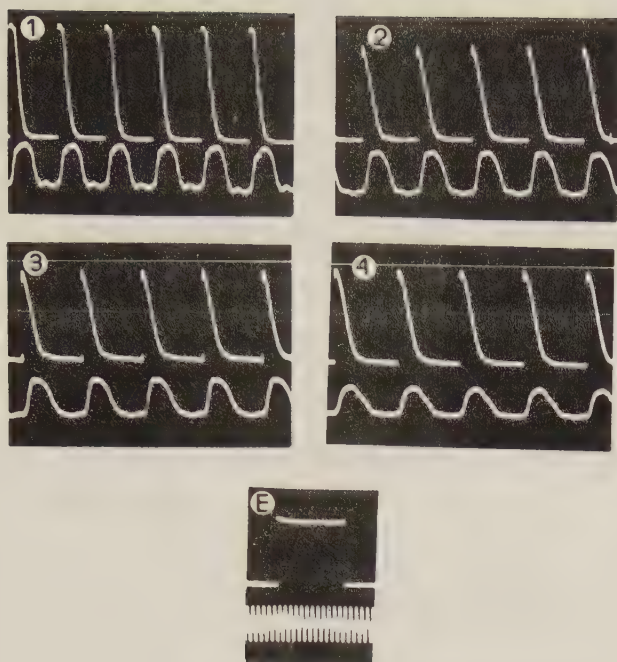


Figure 33 : Action de la MINA sur les potentiels intracellulaires du coeur du rat (isolé in vitro).

- 1 : Tracé normal : en haut, électrogramme ; en bas, mécanogramme.
- 2 : 15 minutes après adjonction au liquide de perfusion de MINA (100 mg/litre).
- 3 : 30 minutes après MINA.
- 4 : 60 minutes après MINA.
- E : Etalonnage : 50 mV 50 c/s.

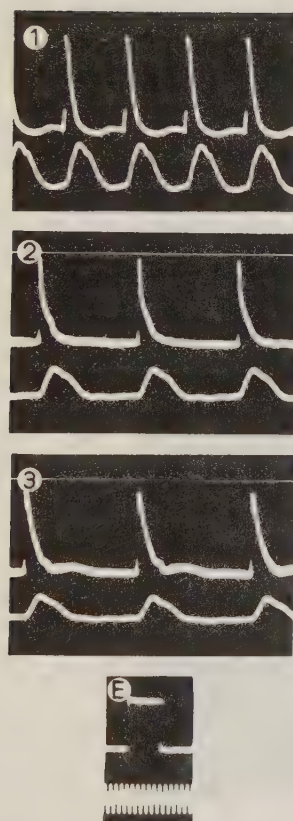


Figure 34 : Action du cyanure de Potassium (même technique que dans la fig. 33)

- 1 : Tracé normal.
- 2 : 15 min. après CNK 2,5 mg/l
- 3 : 30 min. après CNK
- E : Etalonnage 50 mV 50 c/s



Figure 35 : Action de la MINA in vivo sur le coeur de rat, et action comparée du cyanure.

- 1 : Tracé normal. En haut, électrogramme intracellulaire. en bas, électrocardio D2.
- 2 : CNK perfusion lente, 100 µg/kg/min.
- 3 : MINA 50 mg/kg.
- E : Etalonnage : 50 mV 50 c/s

Chapitre VIII. Action de la MINA sur les fibres musculaires.

Nous avons vu que la MINA était capable de supprimer très rapidement les fibrillations musculaires provoquées par les organophosphorés ; il y a donc là une possibilité d'effet direct sur les fibres lisses qu'il nous fallait examiner. D'autre part, il convenait d'étendre l'étude de l'action de la MINA sur les fibres lisses vasculaires aux autres fibres de cette catégorie que possède l'organisme.

a) Fibres striées.

Nous donnerons tout d'abord un exemple de l'action de la MINA sur l'effet musculaire d'un organophosphoré (ici le Sarin). Nous avons choisi le stade ultérieur aux fibrillations, c'est-à-dire le stade de curarisation par hyperdépolarisation que provoquent ces toxiques. On peut voir (figure 36) que le blocage musculaire est très rapidement levé par la MINA. Cet effet est signalé par Holmès et Robbins (118).

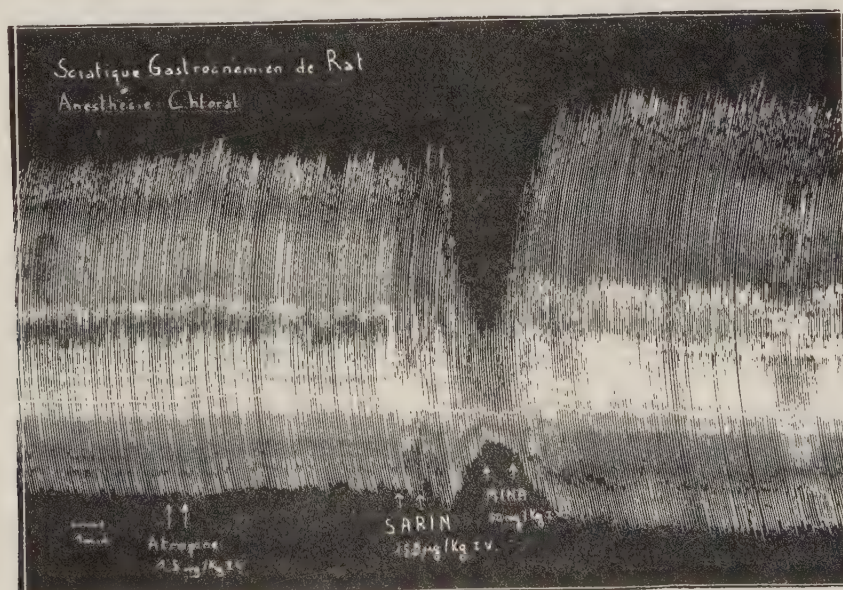


Figure 36. Action de la MINA sur le blocage neuro-musculaire produit par le Sarin.
(préparation sciatique gastrocnémien de Rat).

...

Bien entendu, la réactivation de la cholinestérase des plaques motrices peut expliquer le relâchement du blocage neuromusculaire. Mais il se pourrait également que la MINA possède un effet antagoniste de la curarisation par dépolarisation, c'est-à-dire une action curarisante du type d-tubocurarine (bien que le fait que l'oxime n'ait pas d'effet ganglioplégique ne soit guère en faveur d'une telle hypothèse).

1 : Effet de la MINA sur les muscles striés.

Si l'on utilise une préparation nerf-muscle, par exemple diaphragme-nerf phrénique, ou encore sciatique-gastrocnémien, la MINA, quelle que soit la dose injectée, n'a aucune influence sur la hauteur de la secousse musculaire enregistrée. Un effet curarisant spécifique de la MINA est donc écarté.

2 : Action de la MINA après stimulation de longue durée.

On sait qu'un type particulier de blocage neuromusculaire se développe après des stimulations de longue durée, avec des produits bloquant soit la libération, soit la synthèse de l'acétylcholine. C'est le cas en particulier de l'hémicholinium n° 3 de Long et Schueller (144). Nous avons vu cet effet décrit en particulier par Reitzel et Long (170), Long (145) et Longo (146).

On verra ultérieurement que la MINA bloque le transfert des restes acétyl, à partir du Coenzyme A, sur le cycle de Krebs. Il se pourrait donc que l'oxime intervienne sur la synthèse de l'acétylcholine, puisque le CoA joue un rôle dans cette synthèse.

Nous avons donc examiné l'influence de la MINA dans ces conditions de stimulation de longue durée. La préparation employée a été le sciatique-gastrocnémien de rat, le nerf étant stimulé par des ondes rectangulaires de 0,1 ms, à la fréquence de 50 par seconde, et ceci sur des durées de 2 secondes toutes les 10 secondes. Avec le HC3, dans de telles conditions de stimulation, on obtient régulièrement une paralysie en moins de 30 minutes.

...

Mais avec la MINA, nous n'avons eu aucun effet, et la hauteur de la contraction tétanique était la même au bout de deux heures de stimulation qu'au début de l'expérience.

3 : Interaction avec les curares.

Nous avons utilisé ici, pour examiner l'interaction éventuelle de la MINA avec les curares, la technique du diaphragme isolé de rat de E. Bülbring (40), améliorée par West et Garcia de Jalon (in 29). Ensuite nous avons employé la préparation Jambier antérieur et Soléaire de Chat, avec stimulation du nerf sciatique, pour différencier l'action des pachycurares et des leptocurares dépolarisants (Cheymol, 45', Bourillet, 29').

Nous avons ainsi pu mettre en évidence une légère action antagoniste de la MINA vis-à-vis de la d-tubocurarine (fig. 37).

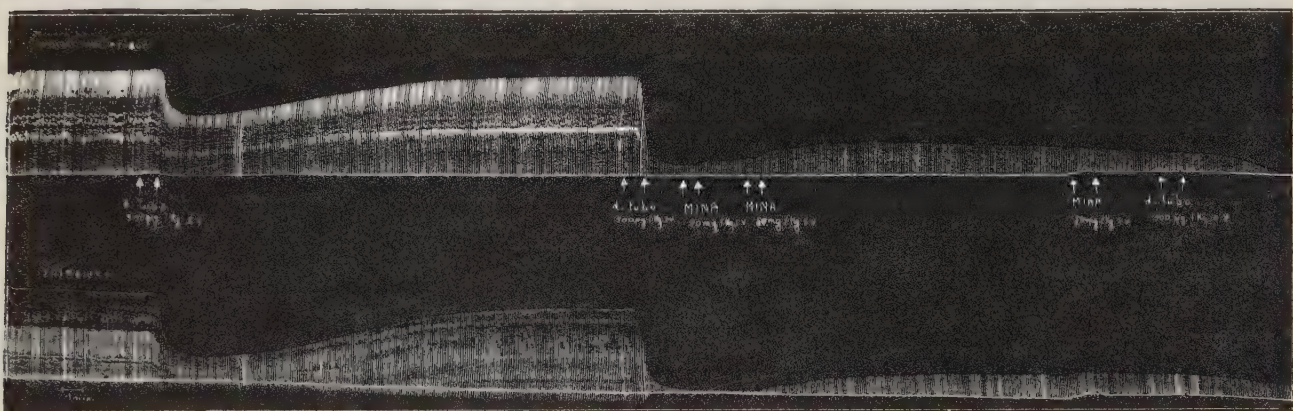


Figure 37 : Légère action antagoniste de la MINA et de la d-tubocurarine.

Par contre, il n'y a pas d'action sur les curarisants dépolarisants comme la succinylcholine (figure 38). Donc, ce que nous avons constaté avec le sarin dans le tracé 36 semble entièrement dû aux propriétés réactivatrices de l'oxime.

L'action décurarisante faible de la MINA pourrait recevoir une explication dans le fait, signalé par Waggley (200) et Meeter (156) que la MINA augmente la durée et l'amplitude des potentiels de plaque motrice, bien que les explications de ce phénomène

...

suggérées par ces auteurs (augmentation de la libération d'acétylcholine ou sensibilisation de la zone réceptrice de la plaque motrice) ne cadrent pas avec le fait que la MINA est sans action sur la succinylcholine dont l'effet devrait être augmenté. Il en est de même dans les curarisations provoquées par les anticholinestérasiques, où les hypothèses de Waggley devraient avoir pour résultat des conséquences plutôt fâcheuses, lors de l'emploi de la MINA ; or, nous avons vu au contraire un effet très intéressant. Il n'est donc pas possible pour l'instant d'interpréter l'action décurarisante de la MINA. Il est vrai que celle-ci ne doit pas, en pratique, avoir une grosse importance, étant donné sa faible amplitude.

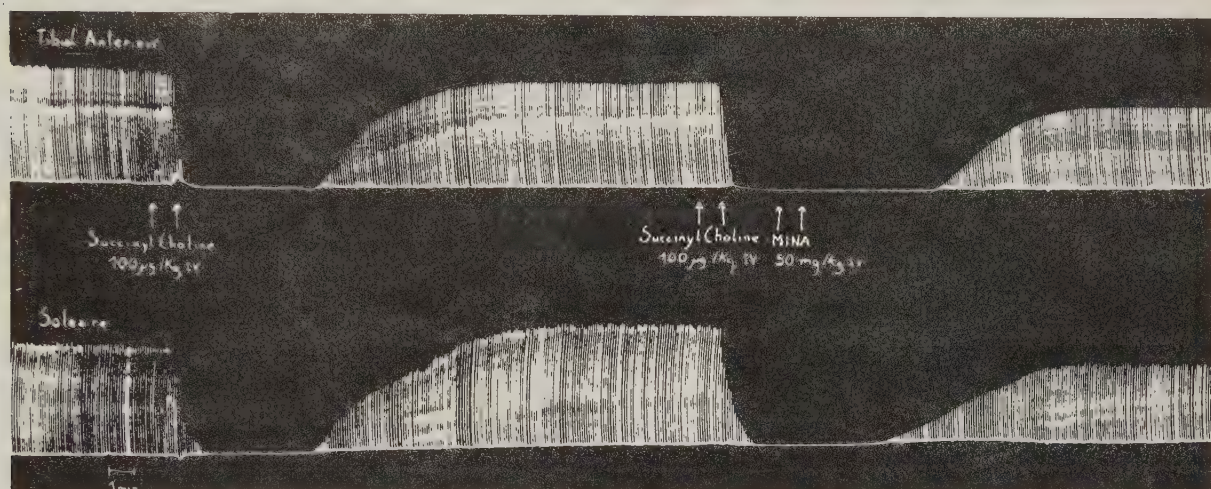


Figure 38 : Absence d'action de la MINA sur l'effet de la succinylcholine.

Enfin, il faut signaler que d'autres oximes possèdent au contraire de la MINA une action antagoniste importante des pachycurares ; c'est le cas du P2S (Wills et coll., 204).

b) Fibres lisses.

L'effet de la MINA sur les fibres lisses n'est pas très clair. Dans certains cas, il peut y avoir dépression du tonus, en particulier intestinal. On en a un exemple dans la figure 39. Mais la plupart du temps, il n'y a pas d'action, comme dans le tracé de la figure 11 (chap. VI). Il n'y a pas non plus d'effet sur la

...

musculature bronchique : la légère action constrictrice qu'on peut voir sur le tracé 16 peut être en effet attribué à un réflexe dû à l'injection elle-même.

Nous savons aussi que la MINA ne possède pas d'action antispasmodique du type atropinique. Il reste à voir si elle n'a pas de propriétés du type papavérinique. Nous avons eu pour cela recours à l'étude classique de l'antagonisme avec le chlorure de Baryum sur l'intestin isolé du rat.

Mais on peut voir (figure 39) que la MINA ne modifie pas la contracture produite par le chlorure de Baryum.

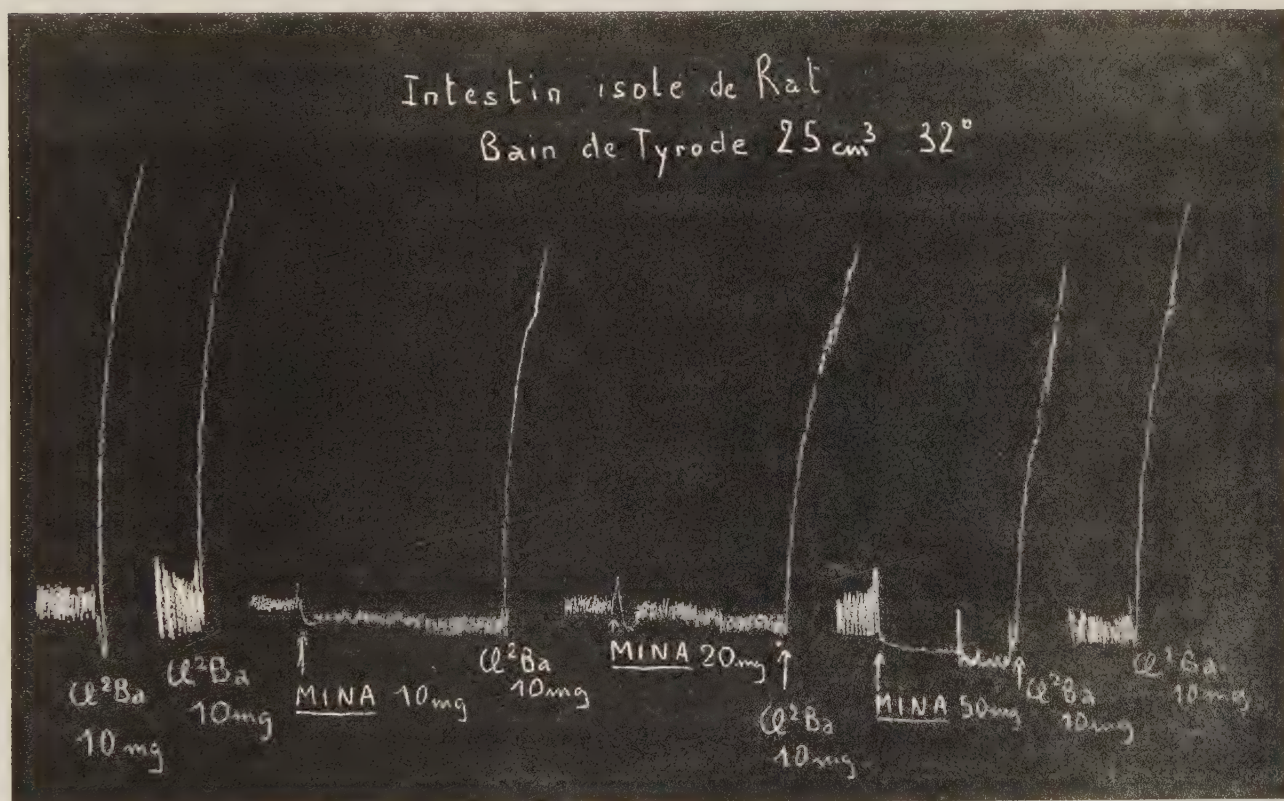


Figure 39 : Absence de propriétés papavériniques de la MINA.

En somme, sur les fibres lisses, la MINA se comporte de façon assez spécifique, et n'a vraiment une action nette que sur la musculature vasculaire.

Cette action spécifique ressemble en fait assez à celle du CO², dont on connaît les propriétés vasodilatatrices. Nous retrouverons, dans d'autres domaines, cette similitude.

Chapitre IX. Action neuroleptique de la MINA.

L'observation des animaux ayant reçu une injection de MINA révèle des modifications profondes du comportement : ces animaux restent parfaitement calmes, immobiles, insensibles aux stimuli extérieurs, ils perdent toute agressivité. Leur aspect ressemble à s'y méprendre à celui d'animaux ayant reçu de la chlorpromazine. Cet effet de sédation se retrouve d'ailleurs chez les animaux intoxiqués par un anticholinestérasique et traités par la MINA : l'agitation motrice et les secousses convulsives disparaissent en effet très rapidement et un comportement calme les remplace.

Cet effet de la MINA varie d'ailleurs suivant les espèces : il est particulièrement marqué chez le rat et le chien (sur ce dernier animal, la MINA se comporte comme une drogue hypnogène, sans avoir d'action anesthésique proprement dite). Sur les autres espèces, sans que l'action "tranquillisante" soit absente, elle est moins nette et nécessite pour être mise en évidence des doses plus élevées. Il semble d'ailleurs que certaines manifestations sur le système nerveux central des oximes soient plus marquées chez les espèces supérieures.

Il est bon de signaler ici que différents auteurs ont fait état, avec certaines oximes, mais jamais avec la MINA, de propriétés neurotropes semblables à celles du produit qui nous intéresse ici. C'est ainsi que Dat-Xuong et coll. (62), avec les oximes de l'acétophénone, de la p-chloracétophénone et de la p-fluoroacétone, ont trouvé à ces produits une activité analgésique supérieure à celle de l'aspirine. Kunze et Hauschild (137), Gass et Bope (98) ont aussi fait état des propriétés analogues de certaines oximes. Knoll et coll. (134), travaillant sur des α amino-cétones, qui ne possèdent pas la fonction oxime, mais dont la structure s'en rapproche, ont trouvé à ces produits une nette activité tranquillisante. Bien que ces analogies de structure doivent être considérées avec circonspection en ce qui concerne la prévision d'une

similitude d'activité pharmacologique, elles peuvent dans une certaine mesure servir d'indication de tendance d'activité.

Toutes ces considérations nous ont donc amené à étudier l'action de la MINA sur les différents tests de mesure d'activité couramment employés avec les produits neurotropes, de façon à situer la place éventuelle de l'oxime parmi ces produits.

1 - Actographie

Nous avons utilisé une cage tremblante à enregistrement direct sur noir de fumée, et des lots de 6 souris par dose ; mais si les animaux étaient placés individuellement dans la cage, nous avons superposé les six tracés successifs faits d'abord sur les témoins (avec injection de sérum physiologique), puis sur les souris ayant reçu de la MINA. Les résultats sont très nets dans la figure 40,, où les animaux traités par 50 mg/kg I.P. de MINA ne se déplacent pratiquement pas dans la cage. La condition de validité de ce test

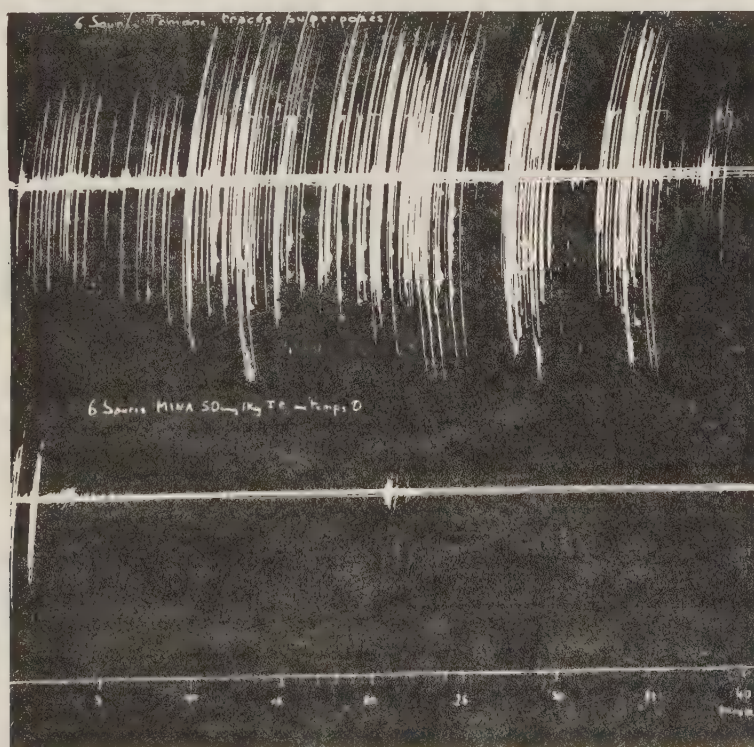


Figure 40 : Action de la MINA sur la motilité de la souris dans le test de la cage tremblante. En haut : tracés superposés de 6 souris témoins ; en bas, tracés superposés de 6 souris ayant reçu 50 mg/kg de MINA.

est que le produit en essai ne modifie pas les aptitudes motrices au niveau des muscles et ne soit pas anesthésique ; or la MINA n'a ni l'une ni l'autre de ces propriétés.

2- Tunnel incliné.

Nous avons mis au point cette méthode qui fait appel à un comportement d'exploration sur le rat. L'appareil consiste en un tunnel incliné (schéma de la figure 41), de section 6x6 cms de un mètre de long, avec une inclinaison de 20 cm pour un mètre. Au bas du tunnel se trouve un box de départ, fermé par une porte dont l'ouverture, ou plutôt l'effacement est provoquée par un ressort, libéré par un électroaimant, lui-même mis sous tension par un contact monté sur le tambour enregistreur. A l'autre extrémité du tunnel se trouve une trappe, munie d'un contacteur sensible dont le rôle est d'actionner un signal inscripteur sur le tambour. Lors de la mise en route de ce dernier, la porte de la cage inférieure est ouverte.

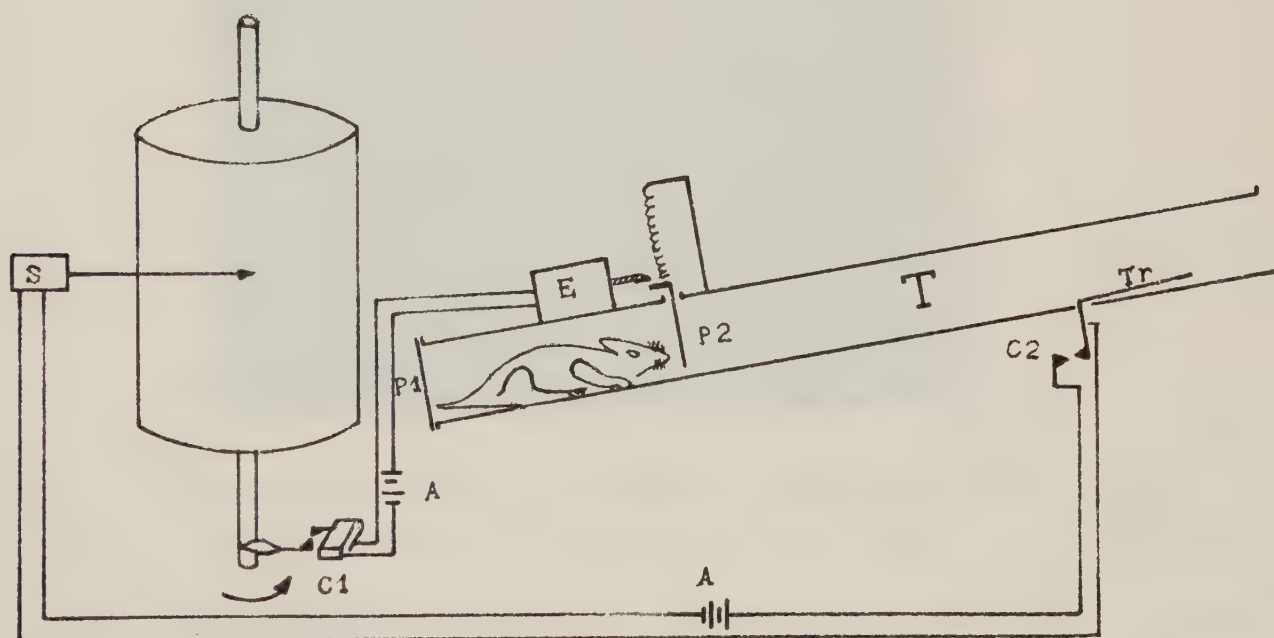


Figure 41 : Schéma du tunnel incliné ; T : tunnel ; P1 : porte d'introduction de l'animal ; P2 : porte effaçable ; E : électroaimant d'ouverture de P2 ; C1 : contact d'ouverture de P2, actionné par le cylindre enregistreur ; C2 : contact de la trappe Tr, actionnant le signal enregistreur S. A : alimentation électrique.

C'est le temps zéro. Les rats non traités sortent immédiatement et montent le long du tunnel incliné, vers la lumière, sans toutefois sortir entièrement. Mais, en passant sur la trappe à contact, ils actionnent le signal, et on peut ainsi mesurer leur temps de montée sur le tambour.

Les rats traités par la MINA, à dose croissante, montent de plus en plus lentement, et, avec des doses élevées de l'oxime, ne quittent même plus la cage de départ. On complète la mesure des temps de montée par le dénombrement des rats arrivant à l'extrémité supérieure du tunnel et s'arrêtant là (qualifiés de sortis sur le tracé de la figure 42).

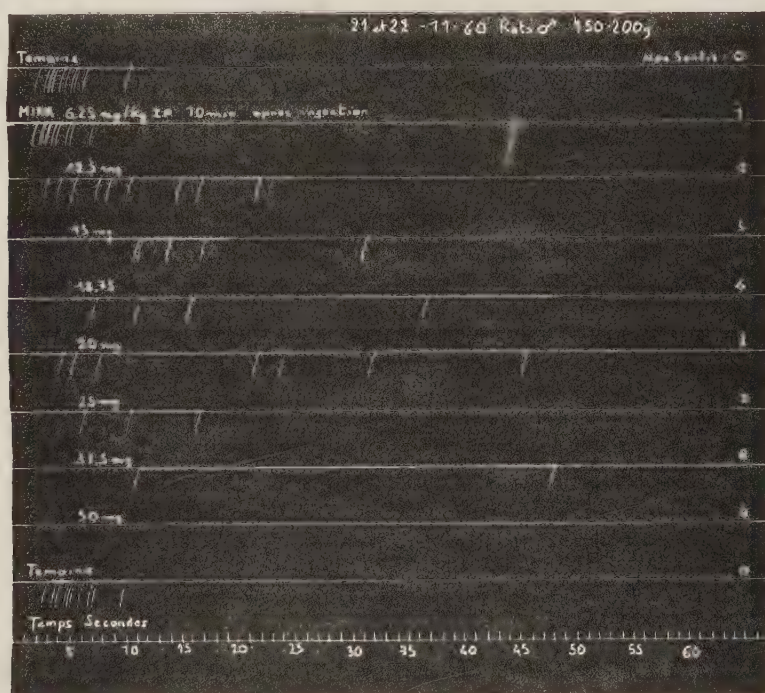


Figure 42 : Action de la MINA, à dose croissante, sur des rats dans le tunnel incliné. (Lots de 10 rats/dose).

Cette méthode peut subir les mêmes critiques que la précédente, c'est-à-dire que l'aptitude motrice des animaux doit être conservée mais on peut y répondre de la même façon.

3 - Tige tournante.

Cette méthode bien connue (Gross, in Boissier et coll., 24) nous a donné les résultats suivants :

...

L'injection de MINA intrapéritonéale à des souris provoque aux doses ci-après :

Tableau X.

Dose	Pourcentage de chutes	Temps moyen de chute
50 mg/kg	60 %	1 min. 45 sec.
75 mg/kg	100 %	16 secondes

On peut donc classer la MINA parmi les produits les plus actifs sur ce test, dans la même catégorie d'activité que la chlorpromazine.

4 - Test de la traction.

Ce procédé, également classique (Boissier et coll., 24), nous a permis d'obtenir les chiffres suivants, 15 minutes après l'injection.

Dose	Pourcentage de chutes
50 mg/kg	13,5 %
75 mg/kg	30 %
100 mg/kg	40 %

Tableau XI.

5 - Test de la cheminée.

Nous avons testé ici les souris 10 minutes après l'injection en utilisant des tubes adaptés à la grosseur des souris, comme le recommandent Boissier et coll. (22). (Tableau XII).

Dose	Moyenne du temps de montée
Témoins	4 secondes
25 mg/kg	5,2 secondes
50 mg/kg	10 secondes

Tableau XII.

6 - Réflexes conditionnés.

Nous avons utilisé ici la méthode de S. Courvoisier et coll. (60), sur des rats conditionnés à grimper le long d'une tige verticale, au bruit d'une sonnerie, pour éviter un choc électrique.

Mais, sur les animaux conditionnés auxquels nous avons injecté de la MINA, nous n'avons pas vu d'abolition de la réponse à la sonnerie, tout au moins pour des doses de MINA non toxiques. Seuls, à 25 mg/kg, deux rats sur les six utilisés n'ont pas réagi au stimulus sonore, tout en conservant la possibilité de grimper le long de la tige lors du choc électrique.

La MINA ne semble donc pas manifester une grande activité sur les réflexes conditionnés, tout au moins avec le procédé employé.

7 - Open-field.

C'est l'open-field de Hall (111, 112) que nous avons choisi comme méthode d'étude des situations libres, en utilisant la technique préconisée par Janssen et coll. (124).

Nous avons profité de ce test pour faire la comparaison de l'action de la MINA et de la réserpine, étant données les similitudes d'action de ces deux drogues dans certains domaines, (chap. XI) et pour voir s'il existe une potentialisation d'action entre les deux.

Nous avons opéré sur des lots de 10 rats, observés individuellement pendant 3 minutes chacun ; les rats témoins ont reçu une injection de sérum physiologique faite dans les mêmes conditions que les injections de MINA ; la réserpine a été administrée 24 heures avant le passage à l'open-field, mais une injection de sérum a néanmoins été faite 10 minutes avant le test ; la MINA a été de son côté administrée 10 minutes avant la mesure.

Les résultats sont les suivants : ils représentent la moyenne des mesures effectuées pour les dix rats d'un même lot :

...

Tableau XIII.

	Traversée de rayon	Redressements	Défécations
Témoins	19	15	1
MINA 10 mg/kg	18	8	0
MINA 25 mg/kg	8	4	0
Réserpine 1 mg/kg	18	13	1
Réserpine 2 mg/kg	15	10	1
Réserpine 1 mg/kg + MINA 10 mg/kg	20	10	1
Réserpine 2 mg/kg + MINA 10 mg/kg	7	4	1

On peut s'étonner du faible nombre de défécations trouvé dans nos résultats, par rapport à ceux présentés par d'autres auteurs. Mais il semble que suivant les souches, les rats sont plus ou moins sujets à cette manifestation que certains ont voulu voir émotionnelle. D'autre part, la signification du nombre des défécations est très discutée (voir Boissier, 26). Aussi préférons-nous attacher plus d'importance aux traversées de rayons et aux redressements, ces derniers nous semblant les plus sensibles à l'action de la MINA, puisque nous avons une nette diminution pour 10 mg/kg.

L'action de la réserpine seule est, dans nos essais, moins marquée qu'on pouvait s'y attendre. Mais l'adjonction de MINA en augmente incontestablement les effets, et réciproquement ; en fait, 2 mg de réserpine adjoints à 10 mg de MINA équivalent à une dose unique de MINA de 25 mg/kg. Il y a donc bien potentiali-

sation d'effet, ce qui s'explique facilement étant donné l'action de la MINA, d'une part, et de la réserpine d'autre part sur les catécholamines.

8 - Potentialisation de la narcose à l'éther.

Nous avons mesuré le temps moyen de sommeil sur un lot de dix souris, maintenues 2 minutes 30 secondes sous une cloche, avec un coton imbibé de 10 ml d'éther anesthésique. Nous avons utilisé un lot témoin et des lots de souris traitées à la MINA à des doses variables, 10 minutes avant l'exposition à l'éther.

Tableau XIV.

	Temps moyen de sommeil
Témoins	1 min. 41 sec.
MINA 12,5 mg/kg	2 min. 04 sec.
25 mg/kg	3 min. 36 sec.
50 mg/kg	3 min. 48 sec.

On a donc une très nette potentialisation de la durée du sommeil, avec un plafond vers 25 mg/kg. La MINA seule ne donne jamais d'induction au sommeil chez la souris.

9 - Réendormissement après sommeil au mébubarbital.

Après injection de 30 mg/kg I.P. de mébubarbital à des souris, nous avons obtenu, chez tous les animaux, un sommeil durant de 3 à 20 minutes. Au moment du réveil, objectivé par la réapparition du réflexe de redressement, nous injectons 50 mg/kg I.P. de MINA.

Dans ces conditions expérimentales, nous avons obtenu, sur dix animaux, 50 % de réendormissement, avec un temps moyen de 7 minutes pour obtenir la nouvelle perte du réflexe de redressement et un temps moyen de sommeil de 18 minutes.

Ce test est donc également très positif.

10 - Action sur les souris IDPN.

Nous avons ensuite essayé la MINA sur des souris traitées à l'IDPN (Imino bis Di PropioNitrile) suivant le schéma de Thuillier et Nakajima (192), et qui présentent des mouvements de marche circulaire, comme les souris valseuses.

La MINA, à la dose de 25 mg/kg, et pendant une durée de 20 à 30 minutes, provoque une diminution notable des mouvements circulaires ; et pour une dose de 50 mg/kg, il y a arrêt total de ces mouvements.

11 - Action de la MINA sur la trémorine.

On sait que ce produit se comporte comme un agent cholinergique central, et provoque une sorte de Parkinson expérimental avec des tremblements fins des extrémités, qui sont supprimés par les agents antiparkinsonniens, (Everett, 79, Stern et Gasparovic, 190).

De plus, nous avons constaté que chez le rat la trémorine provoque le phénomène des "larmes sanglantes" de façon très marquée. Il était donc intéressant d'essayer l'action de la MINA sur ce produit, pour voir s'il n'y avait pas dans les effets centraux de la MINA une action spécifique sur les formations grises centrales, à cause de la ressemblance des troubles provoqués par la trémorine et les anticholinestérasiques.

Nous avons essayé la trémorine principalement sur le rat, car il est plus facile sur cet animal d'objectiver les tremblements que sur la souris, et de plus on dispose du phénomène de la chromodacryorrhée. Nous avons employé les doses suivantes de trémorine : 15, 20 et 30 mg/kg I.P. Il est malheureusement difficile de donner un résultat chiffré de l'effet de la trémorine (nous n'avons pas pu, malgré un certain nombre d'essais, parvenir à faire un enregistrement correct du tremblement). Nous avons donc dû nous con-

tenter de la simple observation. Mais nous nous sommes rendu compte sans ambiguïté que la MINA, à partir de la dose de 25 mg/kg, ne supprimait nullement les troubles provoqués par la trémorine et qu'en fait elle les aggravait.

Il n'y a donc pas plus d'action centrale anticholinergique de la MINA qu'il n'y en a de périphérique. Et cette synergie d'action peut servir à expliquer les effets de l'oxime sur la catatonie que nous verrons plus loin.

12 - Action de la MINA sur la caféine.

Nous avons pris comme type des excitants centraux non amphétaminiques la caféine. Nous avons mesuré l'effet de la MINA sur la DL 50 de ce produit.

La toxicité de la caféine, telle que nous l'avons mesurée sur la souris est de :

$$258 \pm 20 \text{ mg/kg.}$$

Si on administre 25 mg/kg de MINA, 5 minutes avant la caféine, on obtient :

$$166 \pm 27 \text{ mg/kg.}$$

Il y a donc indiscutablement un antagonisme entre la MINA et la caféine. Pourtant, au niveau synaptique, la caféine peut augmenter la sensibilité de ces formations puisqu'elle est décurarisante (Delga et Foulhoux, 65) ; elle possède la propriété d'augmenter la fréquence des potentiels miniatures (Benoît, 13) et elle a des effets post-synaptiques d'augmentation de la sensibilité des récepteurs (Benoît, 13). Or, nous avons vu que la MINA pouvait provoquer des manifestations du même ordre (Wagley, 200, Meeter, 156). Il faut donc admettre, soit que la MINA n'agit pas de la même façon sur les synapses centrales que sur les plaques motrices, ce qui est peu vraisemblable, soit que l'effet de la MINA sur EPP est de peu d'importance, comme nous l'avions supposé lors de l'étude des interactions de la MINA et des curarisants. Cet

effet serait donc masqué au niveau central par l'action sédatrice antagoniste de la MINA et de la caféine.

13 - Interaction MINA-Amphétamines.

Nous avons utilisé ici deux tests pour mettre en évidence une éventuelle influence de la MINA sur les amphétamines et réciproquement :

a) Mortalité de groupe : on sait que la toxicité de Dexamphétamine est plus élevée si les animaux sont placés par groupes nombreux dans une seule cage (Chance, 45) et que la mortalité est en rapport avec l'importance des groupes. L'antagonisme de cet accroissement de toxicité est devenu ces dernières années un procédé classique de mise en évidence de l'activité des neuroleptiques.

Nous avons donc mesuré la toxicité, sur des souris groupées par lots de 8 animaux dans des boîtes de 10 x 15 cm, de l'amphétamine dextrogyre, injectée par voie I.P. à concentration constante de 2 mg/ml, et nous l'avons comparée au chiffre obtenu sur des souris auxquelles nous avons injecté 50 mg/kg de MINA, 15 min. après l'amphétamine. Pour ces essais, nous avons pris soin d'opérer à une température constante de 25°, ce facteur ayant une grosse influence sur la toxicité de groupe. Enfin, nous avons mesuré également la toxicité de Dexamphétamine sur des souris isolées, à titre de comparaison.

Les chiffres suivants ont été obtenus : (DL 50)

- Souris isolées : 48 ± 10 mg/kg
- Souris groupées : $7 \pm 1,1$ mg/kg
- Souris groupées avec MINA : $8,5 \pm 1,1$ mg/kg

Cette diminution de toxicité n'est pas significative. Mais l'explication peut en être donnée aisément si on considère que la durée de l'action dépressive de la MINA est de courte durée (moins d'une heure) alors que celle de Dexamphétamine se prolonge beaucoup plus : l'observation des animaux montre en effet une période

de tranquillisation sous l'influence de la MINA, puis l'agitation caractéristique de l'effet des amphétamines reprend le dessus et la toxicité de groupe n'est, au total, pas modifiée. Il semble donc que la diminution de la toxicité de groupe par un neuroleptique ne constitue donc un test intéressant que dans la mesure où les cinétiques d'action du neuroleptique et de l'amphétamine sont voisines.

b) Nous avons alors cherché si, en sens inverse, la dexamphétamine était capable de modifier la toxicité de la MINA. Nous avons encore opéré sur des souris, l'amphétamine étant injectée aussitôt après l'administration de MINA.

Pour ces essais, les animaux étaient au nombre de 5 dans des boîtes de 20 x 30 cm, donc ne pouvaient être considérés comme groupés.

Nous avons obtenu les DL 50 suivantes :

MINA	190 ± 20 mg/kg
MINA + Maxiton 10 mg/kg	265 ± 26 mg/kg
MINA + Maxiton 20 mg/kg	250 ± 34 mg/kg

On constate donc dans ce cas un antagonisme net MINA-Amphétamine : en effet, dans les conditions où nous avons opéré la longue durée d'action de ce dernier produit dépasse de beaucoup la période toxique de la MINA et peut donc la contrebalancer dans toute sa durée.

Il n'est pas possible de comparer ce test avec le précédent qui est de nature toute différente ; mais on peut en tirer la conclusion que dans la toxicité de la MINA une composante adrénér- gique intervient, ce qui sera confirmé plus tard.

14 - Antagonisme de l'apomorphine.

Nous avons ensuite utilisé ce procédé classique de prévi- sion de l'activité neuroleptique (Janssen et coll., 125). Toutefois,

le schéma expérimental utilisé par ces auteurs a dû être modifié pour tenir compte du caractère particulier de l'action de la MINA : l'apomorphine a été injectée 10 minutes avant l'oxime, à la dose de 5 mg/kg sous-cutanée. Nous avons compté les mouvements de léchage et de mâchonnement pendant une minute toutes les 10 minutes, et c'est la suppression complète de ces mouvements qui a servi à calculer la DE 50 de la MINA. Le rat a été l'animal d'expérience.

Il est toutefois nécessaire de signaler qu'à la dose de MINA de 25 mg/kg, nous avons obtenu des crises de type convulsif chez certains animaux ; l'apomorphine semble donc capable, par un mécanisme non défini, de provoquer des crises potentialisées par la MINA (cf. chap. XI).

Les résultats obtenus ont été les suivants : (Tableau XV)

Temps en minutes après l'injection de MINA	10	20	30	60
DE 50 (en mg/kg)	15 $\pm$ 2,5	13,5 $\pm$ 2	15,5 $\pm$ 2,4	21 $\pm$ 4

On voit donc que sur ce test aussi la MINA se caractérise comme un neuroleptique. La brièveté de sa durée d'action se trouve également confirmée puisque l'efficacité maximum se situe à un délai de 20 à 30 minutes après l'injection et décroît ensuite.

15 - Test de la catalepsie du rat.

Nous avons choisi pour ce test le procédé de Boissier et Simon (22) dans lequel on observe la capacité qu'a l'animal de conserver une position très peu naturelle : on croise les pattes antérieures avec les postérieures ; le rat normal n'accepte absolument pas de rester dans cette posture, au contraire de l'animal cataleptique.

Nous avons opéré sur des lots de 5 rats, en recherchant à des temps différents les effets de la MINA à doses croissantes. Nous avons noté le nombre de rats capables de garder la posture

imposée plus de 15 secondes. (Tableau XVI)

Dose de MINA en mg/kg	Temps en minutes après l'injection				
	10	15	20	25	30
10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
25	3/5	4/5	1/5	0/5	0/5
50	5/5	2/5	1/5	1/5	0/5

Ces résultats appellent toutefois quelques commentaires : l'action cataleptique de la MINA est très brève, et ne dure que quelques minutes, après quoi la catalepsie est remplacée par des mouvements choréo-athétosiques de tasikinésie. Bien qu'on puisse discuter du rapport des deux phénomènes (Boissier et Simon, 23), leur dépendance est certaine ; et il semble bien que dans le cas de la MINA, la tasikinésie vienne rapidement masquer la catalepsie proprement dite, au moins pour des doses sub-léthales, car pour les doses plus faibles, le phénomène de catalepsie subsiste plus longtemps.

16 - Activité analgésique de la MINA.

Nous avons utilisé ici la méthode de mesure des activités analgésiques de d'Amour et Smith (2) : c'est le temps de réaction au chauffage de la queue par un rayon lumineux focalisé, sur des souris. La drogue dont on veut évaluer l'action est injectée 15 minutes avant la mesure par voie intra-péritonéale. Nous avons utilisé des lots de 10 souris ; le temps de réaction est donné en secondes (Tableau XVII).

L'activité analgésique n'est significative que pour des doses de 37,5 et 50 mg/kg. La MINA n'est donc pas un analgésique puissant, et il n'est donc pas possible de la classer parmi les analgésiques vrais.

Tableau XVII.

	Temps de réaction en secondes $\pm$ E.S.
Témoins	4,43 $\pm$ 0,16
MINA 12,5 mg/kg	4,74 $\pm$ 0,33
MINA 25 mg/kg	4,92 $\pm$ 0,27
MINA 37,5 mg/kg	5,8 $\pm$ 1,08 *
MINA 50 mg/kg	12,1 $\pm$ 2,88 *
* : Chiffres statistiquement significatifs.	

Activité analgésique propre de la MINA.

17 - Potentialisation de la morphine.

Nous avons ici utilisé encore le même test, en injectant des doses non analgésiques de morphine, 30 minutes avant la MINA. La mesure de l'analgésie est faite 10 minutes après l'administration de l'oxime, (Tableau XVIII).

	Temps de réaction en secondes $\pm$ E.S.
Morphine 0,5 mg/kg	4,22 $\pm$ 0,18
Morphine 0,5 mg/kg + MINA 12,5 mg/kg	4,13 $\pm$ 0,17
Morphine 0,5 mg/kg + MINA 25 mg/kg	7,10 $\pm$ 0,6 *
Morphine 1,5 mg/kg	4,6 $\pm$ 0,2
Morphine 1,5 mg/kg + MINA 12,5 mg/kg	6,6 $\pm$ 1,1
Morphine 1,5 mg/kg + MINA 25 mg/kg	8,1 $\pm$ 1,6 *
* : Chiffres statistiquement significatifs.	

La potentialisation est donc nette, puisque ni la morphine ni la MINA ne sont analgésiques aux doses utilisées.

Nous avons ensuite essayé l'action de la MINA vis-à-vis d'une dose légèrement analgésique de morphine, c'est-à-dire 3 mg/kg, qui provoque un temps de réaction moyen de 8 secondes. Mais, en adjoignant une dose de 12,5 mg/kg de MINA, il n'est plus possible de calculer une moyenne de temps de réaction, car 4 souris sur 10 ne réagissent pas en 30 secondes, ce qui est le temps limite fixé dans cette épreuve pour éviter des brûlures graves de la queue de la souris. Avec 25 mg/kg de MINA, 7 souris sur 10 ne réagissent pas dans les 30 secondes, bien que l'aspect et le comportement extérieur des animaux ne soit pas changé. Il y a donc dans ce cas une potentialisation importante de l'analgésie morphinique. En fait, nous obtenons une véritable neuroleptanalgésie.

Nous avons tenté de préciser ce phénomène en travaillant sur le rat. Pour cet animal, nous avons renoncé à la technique de d'Amour et Smith, qui nous donnait des résultats trop irréguliers, en faveur d'une technique apparentée à celle de Green, Young et Godfrey (103). Une seringue de 200 cm³ sert à appliquer une pression sur la queue des animaux, par l'intermédiaire d'une arête de 2 mm de large montée sur la tige de son piston, lequel est poussé par de l'air comprimé sous pression réglable grâce à un détendeur de précision à pression secondaire variable, complété par un manomètre. C'est le seuil de pression qui provoque une réaction des animaux qui a été pris comme moyen de juger de l'analgésie. Nous avons opéré sur des lots de 10 rats ; et, au lieu de morphine, nous avons utilisé ici la phénopéridine (R 1406).

Les résultats sont donnés sur le graphique de la figure 43, où les seuils de réaction ont été notés en pourcentage du seuil de réaction avant l'injection de phénopéridine ou de MINA, et ceci après des mesures faites toutes les 10 minutes, de façon à voir la cinétique d'action des drogues employées dans ces essais.

Tous les chiffres donnés dans ce graphique représentent la moyenne des chiffres individuels de réaction de lots de 10 rats.

Lors de l'emploi simultané de MINA et de R 1406, les deux produits ont été injectés en même temps, mais l'un (MINA) par voie intra-péritonéale, et l'autre par voie sous-cutanée pour éviter une réaction chimique possible de l'un des composés sur l'autre.

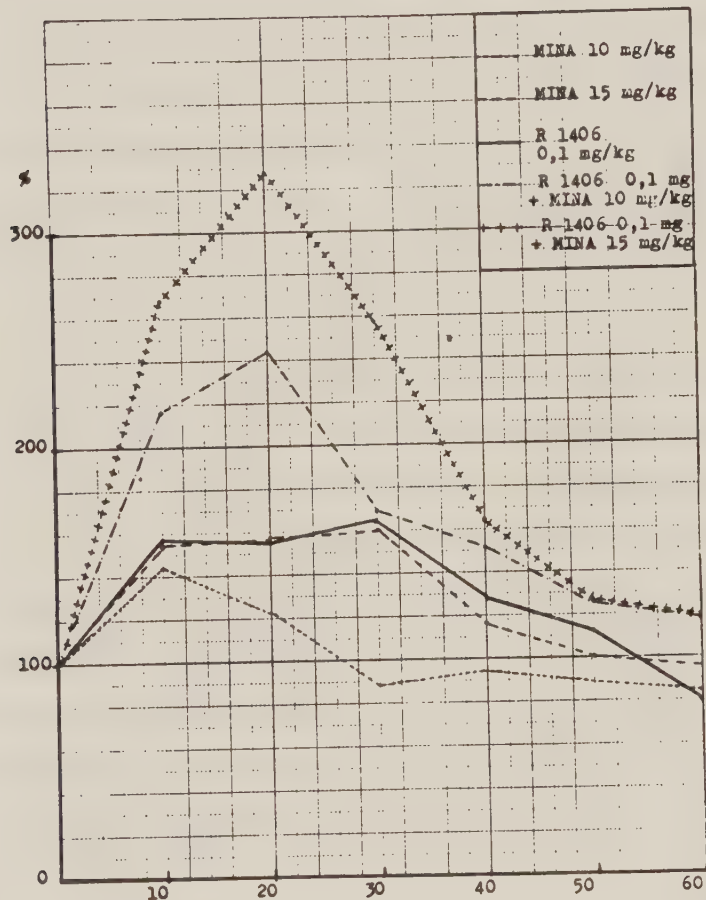


Figure 43 : Potentialisation de l'action analgésique de la phénopéridine en fonction du temps et des différentes doses de MINA.

Les courbes obtenues appellent les remarques suivantes :

- La MINA seule n'est analgésique que pour une dose de 15 mg/kg. Elle équivaut alors à une dose de 0,1 mg/kg de R 1406. Pour une dose plus faible, elle n'est pas analgésique, et même il semble qu'elle sensibilise les animaux à la douleur au bout d'un délai d'action d'une trentaine de minutes.

- La potentialisation de l'analgésie est nette aux doses de MINA de 10 et 15 mg/kg. Mais cette action est de durée assez courte, puisque son maximum se manifeste au bout de 20 minutes, mais qu'après 40 minutes tout effet a pratiquement disparu. Nous retrouvons là un des aspects de l'action neuroleptique de la MINA. Mais dans le cas présent, cette action est intéressante, car elle permet d'obtenir une neuroleptanalgie de courte durée qui pourrait être utile dans certains cas, et que pour notre part nous employons couramment dans notre laboratoire pour des interventions brèves sur des animaux (implantations d'électrodes, etc...).

- La neuroleptanalgie ainsi obtenue se distingue de celle qu'on peut provoquer avec les neuroleptiques classiques, en ce sens qu'il n'y a pas de phénomènes de dépression respiratoire. Au contraire, les propriétés particulières de la MINA dans ce domaine (cf. chap. X) font que l'on obtient une stimulation de la respiration. On se trouve donc devant une situation unique en matière de neuroleptanalgie, et nous considérons que cette technique d'association mériterait d'être développée, et peut-être étendue à l'usage clinique pour l'homme.

18 - Action hypothermisante.

Nous avons étudié l'action de la MINA sur la régulation thermique par la mesure de la température rectale profonde de rats immobilisés dans un appareil à contention. Nous avons utilisé des sondes à thermocouple pour cette mesure.

Les résultats obtenus sont donnés dans la figure 44. Les courbes obtenues représentent pour chaque dose la moyenne des tem-

pératures de 5 rats.

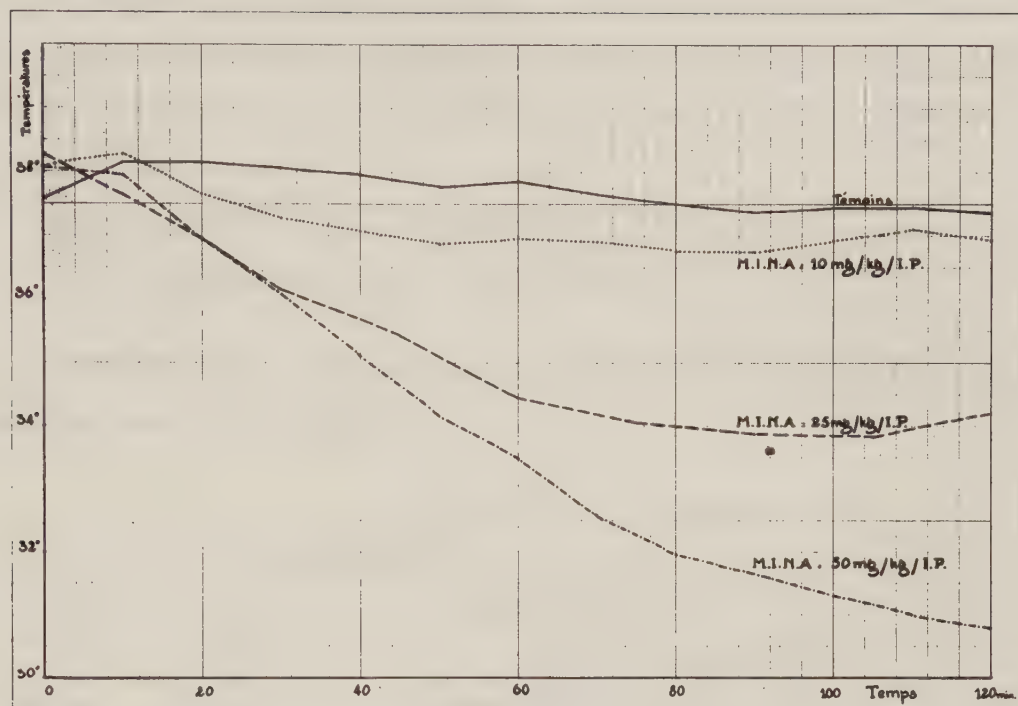


Figure 44 : Action hypothermisante de la MINA.

Les animaux témoins, sur ce tracé, présentent une légère baisse de température due à l'immobilisation. Ce phénomène est bien connu sur le rat. Mais, en comparaison, l'action hypothermisante de la MINA est déjà très nette pour 10 mg/kg, et elle devient très importante pour des doses supérieures, puisque la baisse atteint 9° en deux heures pour des doses voisinant la DL 50 (50 mg/kg chez le rat).

Il est possible toutefois qu'une partie de l'action hypothermisante de la MINA ne soit pas d'origine centrale, par action sur les centres thermorégulateurs, mais soit due à la chute du taux des catécholamines périphériques. Il n'en reste pas moins que des drogues ayant des propriétés mixtes de ce type, comme la réserpine, sont considérées comme des neuroleptiques majeurs, ce qui nous semble, avec des particularités intéressantes, être aussi le cas de la MINA.

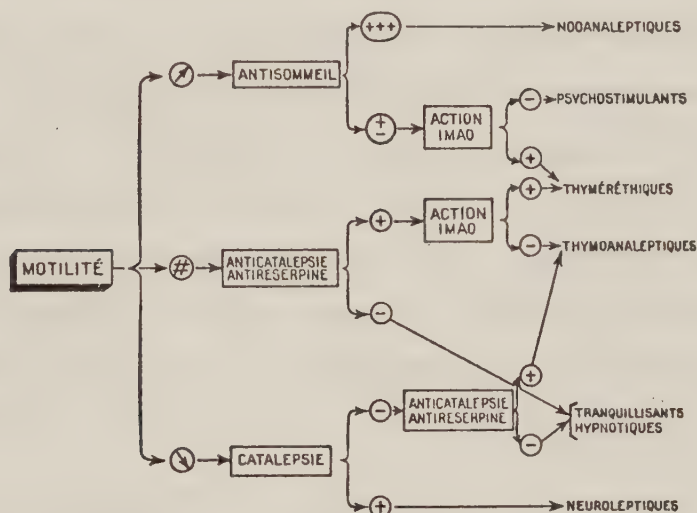
...

19 - Conclusions.

En effet, si nous adoptons le système de tri de pharmacologie des substances psychotropes proposé par Boissier et Simon (24) et reproduit ci-dessous, nous constatons que la MINA possède les propriétés suivantes :

- Diminution de la motilité,
- Développement d'une catalepsie.

On peut donc légitimement classer cette oxime dans la catégorie des neuroleptiques.



Classement des drogues psychotropes
Emprunté à Boissier et Simon (24)

A ces effets, on peut ajouter :

- Renforcement de la narcose à l'éther et au mébubarbital.
- Potentialisation de l'analgésie à la morphine et la phénopéridine.
- Effet hypothermisant.
- Action hypotensive.
- Antagonisme de l'apomorphine.
- Antagonisme de la caféine.
- Suppression de l'effet de l>IDPN sur les souris.
- Action sur l'open-field semblable à celle de la réserpine
- Potentialisation des effets de la réserpine (à l'open-field).

...

- Effet de synchronisation sur l'EEG.
- Propriétés sympatholytiques.

Toutes ces actions précisent donc bien que la place de la MINA se trouve parmi les neuroleptiques majeurs.

Il y a toutefois, parmi les propriétés classiques des neuroleptiques, deux effets que ne possède pas la MINA : elle ne diminue pas la toxicité de groupe (bien qu'elle soit antagonisée par l'amphétamine) ; et nous n'avons pas non plus trouvé d'action de l'oxime sur les réflexes conditionnés.

Mais comme nous l'avons vu, nous pouvons attribuer ces déficiences à la fugacité d'action de la MINA, tout au moins en ce qui concerne la toxicité de groupe ; pour les réflexes conditionnés, cette explication est plus hypothétique, mais n'est pas invraisemblable, dans la mesure où nous ignorons le mécanisme exact du conditionnement. En tous cas, il nous semble que cette exception est insuffisante pour empêcher de considérer la MINA comme un neuroleptique.

La brièveté de l'effet de la MINA (sauf comme hypothermisant, mais ce test se caractérise par la longue inertie de son déclenchement et de sa cessation) en fait l'originalité et l'intérêt comme neuroleptique. Si cette oxime a peu de chances d'être utilisée comme neuroleptique chez l'homme, elle montre en tous cas que l'effet de sédation du système nerveux central n'est pas forcément de très longue durée, et nous pensons que des drogues ayant un effet semblable pourraient être utilisées avec profit en neuroleptanalgesie notamment. En tous cas, il s'agit d'une propriété bénéfique en matière de traitement des intoxications par organophosphorés, ou la réversibilité de l'effet de sédation du système nerveux central est souhaitable dans des délais rapides, dès que la réactivation de la cholinestérase est suffisante pour assurer un fonctionnement normal des structures nerveuses centrales.

Chapitre X. La MINA et les centres respiratoires.

Nous avons vu dans les chapitres précédents que l'une des plus précieuses propriétés de la MINA dans la lutte contre les intoxications par les organo-phosphorés résidait dans la capacité de l'oxime de faire repartir la respiration (Chapitre III, fig. 1, 2, 3, 4).

Mais nous avons vu aussi que la réactivation des cholinestérases des centres respiratoires semble très faible, sinon nulle, quand on emploie la MINA à faible dose, alors que l'action centrale est suffisante pour assurer la survie (Chap. III, p. 28). Nous avons alors formulé l'hypothèse que la MINA peut avoir des propriétés indépendantes de son pouvoir réactivateur. C'est cette hypothèse que nous allons essayer de vérifier ici.

La justification d'une action directe de la MINA sur les centres respiratoires doit évidemment se faire en l'absence d'intoxication par un organophosphoré. Nous avons déjà des éléments de preuve de cette action, puisque nous avons vu une accélération respiratoire nette sur le chien sans moëlle (Chap. VII, fig. 25), et sur le chien normal au cours de l'intoxication par la MINA en perfusion (Chap. IV, fig. 6).

Mais, si la MINA possède véritablement une action de stimulation sur les centres respiratoires, on doit pouvoir la retrouver dans les dépressions respiratoires dues à d'autres causes que les anticholinestérasiques.

Nous avons donc mesuré cette action sur le rat dont la respiration est déprimée par les barbituriques ou la morphine. Nous avons choisi le rat, bien que l'animal utilisé classiquement dans ce genre d'étude soit le lapin, parce que le rat est pour nous un animal de choix dans l'étude des propriétés de la MINA, alors que le lapin est beaucoup moins réactif.

1 - Action de la MINA sur la dépression respiratoire
provoquée par les barbituriques.

Nous avons pris comme test pour cette première série d'essais la diminution de la fréquence respiratoire provoquée par le mébubarbital. Nous avons tout d'abord déterminé une dose qui provoquait environ 50 % de baisse de la fréquence respiratoire initiale d'un lot de 10 rats, c'est-à-dire 30 mg/kg.

Il est difficile, sur un rat non anesthésié, d'enregistrer la fréquence respiratoire, qui doit donc être comptée par un observateur. Toutefois, le rythme respiratoire du rat étant très rapide, nous avons utilisé pour faciliter ce travail un compteur électromagnétique actionné par un contacteur sensible et à faible course, qu'une faible pression du doigt de l'observateur suffisait à faire fonctionner. Ce système diminue de beaucoup la fatigue de l'observateur, donc ses erreurs.

Les résultats obtenus sont donnés sur la figure 45.

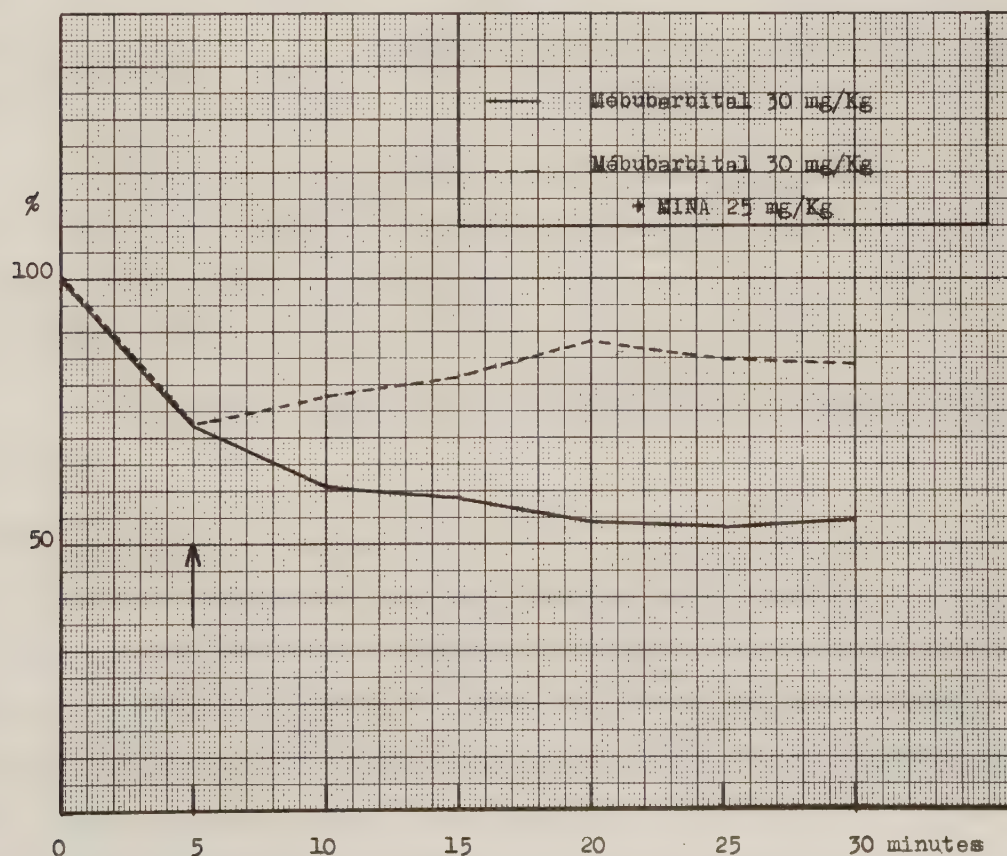


Figure 45 : Action de la MINA sur la fréquence respiratoire du rat.

La MINA a été administrée 5 minutes après le mébubarbital (à la flèche).

On voit que l'injection de MINA provoque immédiatement une remontée de la fréquence respiratoire (alors que d'autre part la MINA potentialise le sommeil barbiturique). Nous avons donc recherché si une action analogue se retrouvait avec un autre dépresseur respiratoire classique, c'est-à-dire la morphine.

2 - Action de la MINA sur la dépression respiratoire provoquée par la morphine.

La morphine, chez le rat, provoque une irrégularité importante de la fréquence respiratoire avec des pauses suivies d'accélération du rythme. Ceci rend le comptage très imprécis. Aussi avons-nous renoncé à ce moyen d'évaluation de la dépression respiratoire, qui avait pourtant le mérite de n'exiger aucune contention, en faveur d'une technique inspirée de celle de Rauh et Osterberg (169) qui permet de mesurer le volume respiratoire minute du rat, au prix malheureusement d'une contention assez sévère. Il est vrai que dans notre cas, en utilisant un analgésique, la gêne physique a pu être réduite du fait de la drogue. Pourtant ce procédé ne nous paraît avoir de valeur que pour des mesures comparatives.

Quoi qu'il en soit, nous avons opéré sur des lots de dix rats en mesurant pendant une minute toutes les 10 minutes le volume respiratoire. C'est ce chiffre qui nous a servi à évaluer la dépression respiratoire et l'effet de la MINA.

Mais nous avons voulu ici comparer l'action de la MINA à celle d'un antidote spécifique de la morphine, c'est-à-dire l'apomorphine.

Les résultats de ces essais sont donnés dans la figure 46. Nous avons choisi une dose de morphine qui nous donne à peu près une dépression respiratoire de 50 %, et des doses de MINA de 10 et 25 mg/kg. Devant le peu de différence d'effet de ces deux doses, nous n'avons pas jugé utile d'en élargir la gamme. Les résultats sont exprimés en pourcentage du volume de départ pour chaque rat, et c'est la moyenne des chiffres obtenus pour chaque

lot de 10 rats par dose qui nous a servi à tracer les courbes représentées.

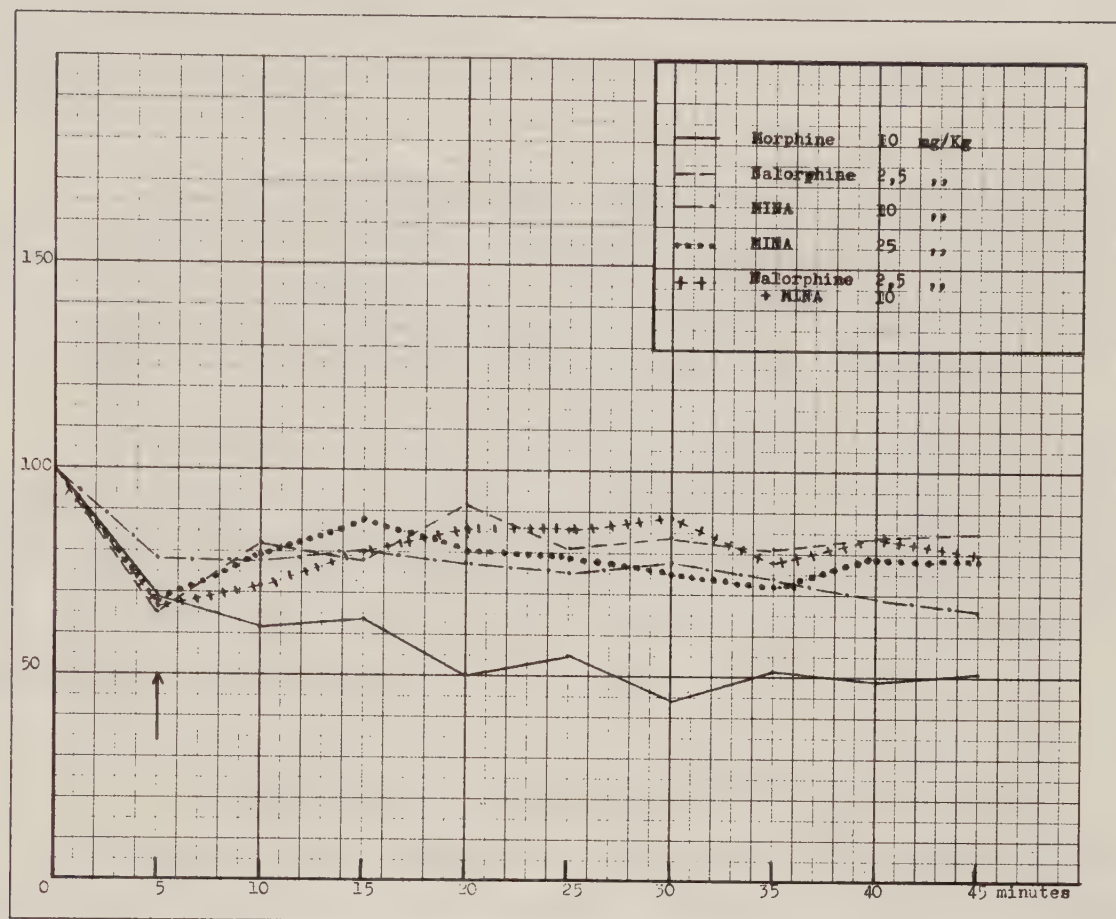


Figure 46 : Action de la MINA sur la dépression respiratoire provoquée par la morphine, et comparaison avec l'action de la nalorphine. La MINA a été administrée (à la flèche), 5 minutes après la morphine.

Une dose de MINA de 10 mg/kg est donc équivalente à 2,5 mg/kg de nalorphine.

Mais l'action de la MINA vis-à-vis de la morphine est ambiguë : le maximum d'effet semble être situé au voisinage de 10 mg/kg puisque 25 mg/kg ne donnent pas un résultat sensiblement différent. D'autre part, l'action de la MINA et de la nalorphine ne se potentialisent pas, ni même ne s'additionnent, ce qui est difficile à comprendre. Comme embryon d'explication, il faut retenir le fait que la MINA est un stimulant des centres respiratoires, et pas un antagoniste de la morphine, qui est au contraire potentialisée

du point de vue analgésie. Le seuil de déclenchement, et de saturation de l'action stimulante respiratoire est sans doute obtenu pour des doses assez faibles de MINA, ce qui explique que les doses plus élevées ne sont pas plus actives que la dose nécessaire pour atteindre l'effet maximum.

Il est plus difficile d'expliquer la non-potentialisation de la nalorphine, à moins d'admettre, ce qui nous semble bien aventureux, que la MINA s'oppose à l'action de cette dernière. Aussi ne tenterons-nous pas d'aller plus avant sur ce terrain.

Le fait essentiel reste que la MINA est capable de s'opposer aux effets dépresseurs respiratoires de la morphine, tout en étant capable de potentialiser les effets analgésiques ; ce qui fait de cette oxime une exception parmi les drogues douées de propriétés neuroleptiques.

3 - Localisation du point d'action de la MINA.

On classe d'ordinaire les stimulants respiratoires d'après leur mode d'action sur les centres, directe ou indirecte par l'intermédiaire des zones vasculaires chémosensibles.

Pour savoir si la MINA agissait par l'un ou l'autre mécanisme, nous avons entrepris les expériences suivantes :

a) Injection de MINA par voie sous-occipitale.

Nous avons opéré sur des chiens anesthésiés, avec enregistrement de la respiration thoracique, et injection de doses de MINA de 1 à 5 mg,

On retrouve dans tous les cas l'action classique de stimulation en amplitude et en fréquence que provoque la MINA. Mais, bien que les quantités de drogues employées soient faibles, la grande diffusibilité de la MINA permet de penser qu'elle peut cependant passer dans la circulation, et stimuler les récepteurs chémosensibles.

b) Section des nerfs pneumogastriques et de Herring.

Nous avons donc éliminé les chémorécepteurs aortiques et carotidiens, de façon à mettre en évidence une action uniquement centrale de la MINA. Le tracé de la figure 47 montre le résultat d'une telle expérience.

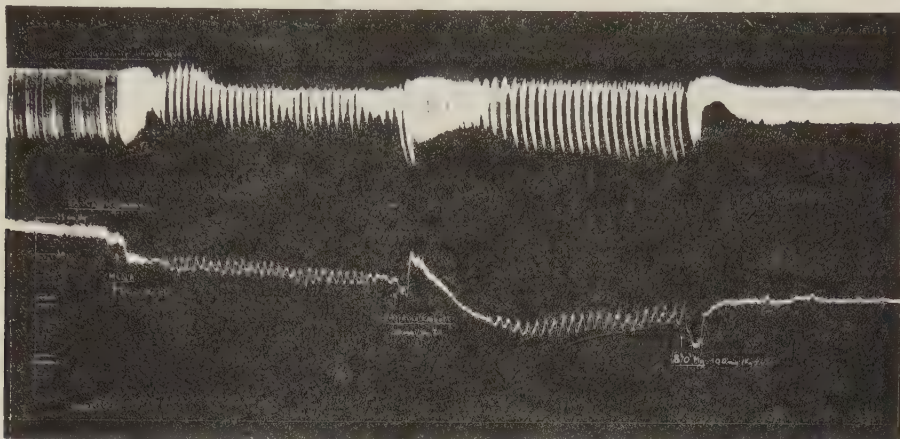


Figure 47 : Action de la MINA sur la respiration et la tension artérielle, après section des nerfs de Herring et des pneumogastriques.

On peut voir sur ce tracé que l'injection de MINA provoque une hypotension qui reste permanente, les réflexes correcteurs à point de départ des zones barosensibles ayant été supprimés en même temps que les réflexes à point de départ chémosensibles.

La respiration est, elle, accélérée dès l'injection de MINA, mais très rapidement un rythme de Cheynes-Stokes apparaît. L'injection d'un chélate de cobalt doué de propriétés anticyanure (histidine Cobalt) fait régresser temporairement ce phénomène, mais c'est l'injection d'hyposulfite de soude qui le fait disparaître définitivement.

Cette expérience apporte de nombreux enseignements :

- On peut penser que l'action de la MINA s'exerce bien sur les centres respiratoires, et ceci de façon directe, puisque les mécanismes réflexes ont été supprimés. C'est donc une confirmation de notre hypothèse de départ.

- Mais on peut penser aussi que l'action de stimulation respiratoire de la MINA est due en réalité au cyanure libéré par la drogue, et dont on sait que, à faible dose, il peut manifester un tel effet. En réalité, comme cette stimulation respiratoire se produit dès l'injection de MINA, et que, à la suite de l'étude de la métabolisation de cette drogue, nous savons que la formation d'acide cyanhydrique est progressive, donc que cet effet ne joue pas au début de l'action de la MINA, nous avons là une confirmation des propriétés sui generis de l'oxime.

- Par contre, l'apparition secondaire d'altérations du rythme respiratoire, et en particulier d'un Cheynes-Stokes, semble incontestablement dû à un début d'intoxication cyanée, puisque les agents complexants des ions CN le font disparaître.

- On peut aussi constater que l'effet de l'histidine-cobalt n'est que de faible durée. Ceci peut expliquer que cette drogue est incapable de modifier la DL de la MINA. Par contre, l'hyposulfite a une action beaucoup plus prolongée, puisqu'on sait que son action anti-cyanure est due en réalité à une augmentation de la transformation des cyanures en sulfocyanures sous l'influence de la rhodanèse hépatique, ce qui est particulièrement adapté à la neutralisation de la formation continue, mais à faible dose, d'ions cyanures. Mais c'est aussi une confirmation supplémentaire d'une action propre de la MINA, qui était jusque là masquée par l'effet toxique de l'intoxication cyanée.

c.- Vérification d'une éventuelle action stimulante des cyanures :

Nous avons tout de même tenté une contre épreuve de vérification pour nous assurer que l'effet stimulant des ions CN est incapable de reproduire celui de la MINA. Pour cela, nous avons utilisé l'animal dont la respiration est diminuée par les anti-cholinestérasiques, puisque c'est là que l'action de la MINA est la plus spectaculaire. Le toxique a été injecté par voie sous-

occipitale afin de réduire son action uniquement aux centres respiratoires. On voit les résultats sur le tracé de la figure 48.

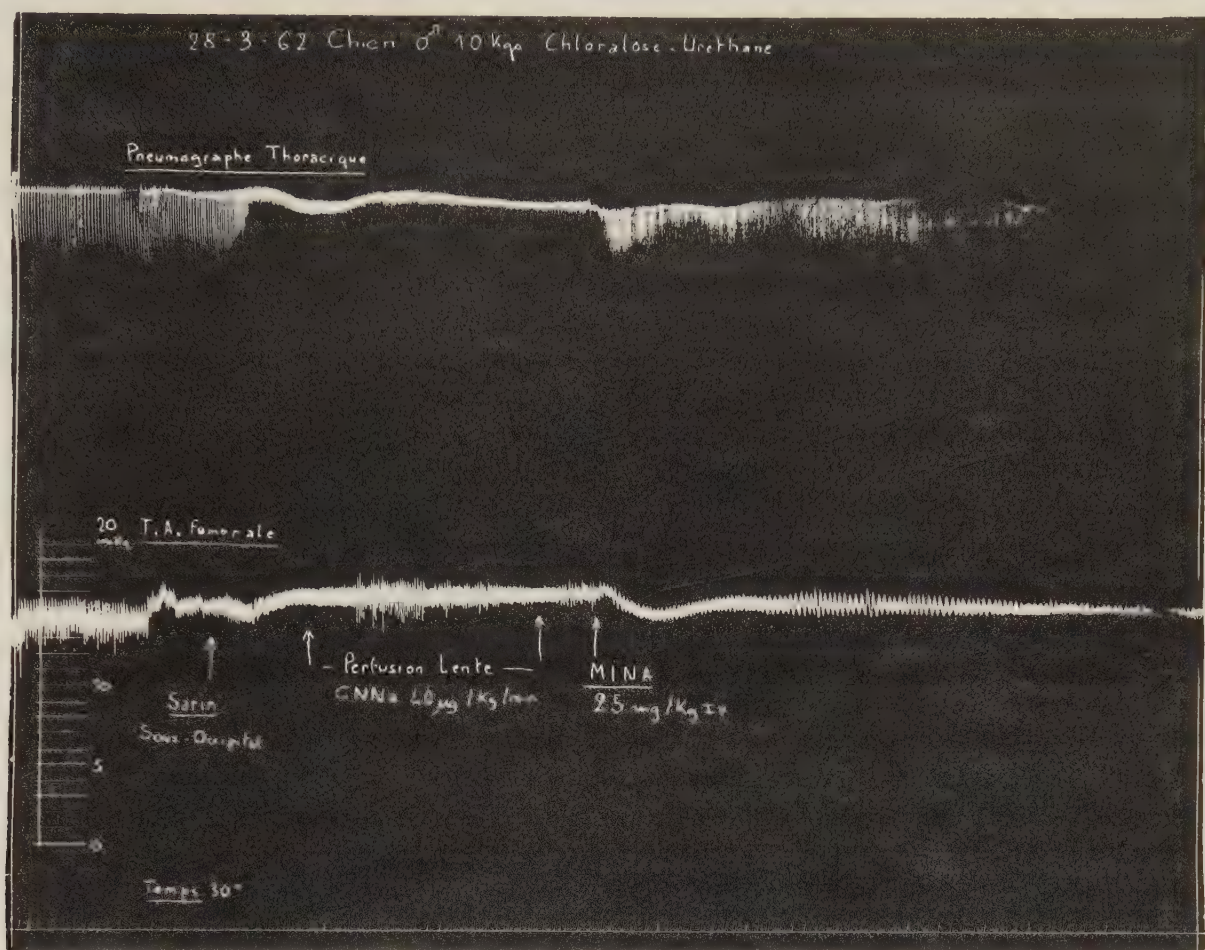


Figure 48 : Action comparée de la MINA et du cyanure de sodium sur la stimulation respiratoire dans le blocage des centres bul-baires produits par les organophosphorés.

Dans cet essai, la dose de Sarin injectée n'a pas provoqué un arrêt total de la respiration, mais seulement une forte diminution d'amplitude, ce qui nous a évité d'avoir recours à la respiration artificielle, et a rendu le tracé plus facilement interprétable. Nous avons alors injecté par voie veineuse une perfusion lente de cyanure de sodium, à la vitesse de $40 \mu\text{g/kg/min.}$, ce qui correspond à la libération d'HCN produite par 50 mg/kg de MINA, d'après nos résultats sur la métabolisation de la MINA (Chap. IV) et compte tenu des différences de poids moléculaire de l'acide cyanhydrique et du cyanure de sodium.

On peut constater dans cette expérience que cette perfusion est totalement inefficace sur le plan de la stimulation respiratoire surtout si on compare cet effet à celui de la MINA injectée

dans un deuxième temps, à une dose pourtant moindre que celle donnant une libération de 40 $\mu\text{g/kg/min}$ (nous avons voulu dans cet essai éviter une surcharge en CN de façon à éviter les manifestations toxiques de ce corps, c'est pourquoi nous avons réduit la dose de MINA, mais le résultat n'en est que plus probant).

Nous en concluons donc que la libération de cyanures par la MINA est incapable de rendre compte de l'effet de stimulation des centres respiratoires par cette drogue.

Il est évident que l'on peut objecter à cette conclusion que la comparaison des deux produits sur la stimulation respiratoire dans le cas d'intoxication par organophosphoré, ne tient pas compte de l'action réactivatrice de la MINA, qui n'existe pas dans le cas du cyanure. Mais nous avons vu (Chap. III) que la MINA pouvait avoir une action favorable dans ce genre d'intoxication sans réactivation notable. Il semble donc bien qu'un mécanisme particulier à cette oxime, et qui n'inclut ni la participation de l'acide cyanhydrique libéré, ni les mécanismes de réactivation, existe dans la pharmacologie de la drogue, spécialement dans son action sur la respiration.

Un argument supplémentaire en faveur d'une action spécifique de la MINA réside du reste dans le fait que nous avons signalé au chapitre III, à propos de la toxicité en perfusion lente : la stimulation respiratoire est constante et de plus en plus marquée à mesure que l'intoxication se poursuit, sans la production d'un arrêt respiratoire primaire suivi d'une reprise sous forme de gasps, ce qui est classique dans l'intoxication cyanée sur le chien anesthésié ; de plus la mort survient par arrêt cardiaque plus que par arrêt respiratoire, à l'inverse de ce qui se passe aussi avec le cyanure.

Toutefois, il est impossible de nier toute participation de la formation d'acide cyanhydrique dans la pharmacologie de la MINA. En fait, nous pensons que le mécanisme de stimulation respi-

ratoire est double. Dans un premier temps, la MINA manifeste son action propre qui est très semblable à celle du CO^2 . Nous avons déjà signalé une similitude d'action de ces deux corps dans les effets vasodilatateurs de la MINA, et nous retrouvons les mêmes choses dans les effets respiratoires. Il est possible qu'une certaine communauté soit à envisager dans l'action intime sur le plan biochimique, de la MINA et du CO^2 , donc qu'il y ait plus qu'une ressemblance entre les deux drogues.

Mais à cet effet spécifique de la MINA s'en superpose un second (qui peut d'ailleurs augmenter l'effet du premier), c'est la libération secondaire d'acide cyanhydrique. Des manifestations toxiques surviennent alors. On doit donc empêcher cette deuxième phase en luttant contre l'intoxication cyanée. L'hyposulfite de sodium se révèle le produit de choix pour cela, étant donné la faible toxicité de cette drogue, son efficacité de longue durée, et le fait qu'elle ne semble agir que sur les manifestations toxiques dues à l'acide cyanhydrique, sans modifier les propriétés de stimulation respiratoire de la MINA, comme nous l'avons vu sur le tracé de la figure 47, ce qui est important dans l'éventualité d'un emploi pratique de cette oxime.

Chapitre XI. La MINA et les convulsivants.

Nous avons intentionnellement disjoint de l'étude des propriétés neuroleptiques de la MINA celle de ses interactions avec les convulsivants, alors que classiquement ces effets font partie de la technique de caractérisation de ce genre de drogues. Mais l'importance des résultats que nous avons obtenus, et qui éclairent la biochimie de l'action intime de la MINA, justifient une telle attitude.

1 - Action de la MINA sur l'électrochoc.

Nous avons utilisé le rat comme animal d'expérience, et nous l'avons soumis à des électrochocs provoqués par du courant alternatif à 50 périodes, délivré par un appareil construit selon le schéma donné par Cheymol (48). Le type d'électrodes employées était intra-auriculaire, relativement facile à mettre en place chez le rat, et donnant des résultats plus constants que les électrodes cutanées.

a) Electrochoc supramaximal.

On utilise un courant délivré sous une tension de 80 volts pendant une demi seconde. On obtient alors régulièrement chez tous les animaux des crises typiques tonico-cloniques. La mortalité est nulle chez les animaux témoins, et le temps de récupération (c'est-à-dire le temps au bout duquel les animaux sont capables de marcher normalement) est d'environ 3 minutes 30. Ces deux éléments ont servi à juger de l'action de la MINA, qui a été administrée par voie intra-péritonéale à doses croissantes, 15 minutes avant l'électrochoc.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau XIX.

...

	Temps de récupération	Mortalité
Témoins	3 min. 30	0/5
MINA 10 mg/kg	2 min. 30	0/5
MINA 17,5 mg/kg	4 min.	0/5
MINA 25 mg/kg	30 min.	1/5
MINA 50 mg/kg	2 h 30 min. à 18 heures	2/5

Tableau XIX. Action de la MINA sur l'électrochoc supramaximal.

On voit donc que la MINA, à partir d'une certaine dose, provoque l'apparition d'une mortalité chez les animaux soumis à son action, et qu'elle modifie considérablement les temps de récupération. L'aspect des rats est alors très caractéristique : ils restent plongés dans un coma flacide profond ; mais la respiration n'est pas diminuée ; la mort ne survient pas par défaillance respiratoire, alors que généralement c'est le mécanisme admis dans les crises convulsives fatales, en particulier quand elles sont potentialisées par la réserpine (Wortz et coll., 210). L'action de la MINA vis-à-vis des convulsivants est à cet égard très semblable à celui de la réserpine (sauf sur la respiration).

b) Electrochoc seuil.

Nous avons opéré en cherchant le voltage qui ne donne pas une crise franche, mais une précrise, avec au maximum la production de quelques mouvements cloniques, mais sans crise tonique, ni perte de conscience. Nous avons trouvé que le voltage à adopter était de 50 volts, avec une durée de passage du courant de 1/2 seconde. Les résultats sont les suivants : (Tableau XX).

...

	Intensité de la crise	Temps de récupération
Témoins	Limite	Immédiat
MINA 25 mg/kg 15 min. avant électrochoc	Typique clonico- tonique	Plusieurs heures.

Tableau XX. Effet de la MINA sur l'électrochoc seuil.

2 - Action de la MINA sur les crises pentétra-zoliques.

Il est difficile d'obtenir avec l'électrochoc, pour des voltages limites, des résultats très homogènes, car en réalité la quantité de courant reçue varie selon la résistance de contact des électrodes, qu'il est difficile de maintenir constante chez tous les animaux. Cet inconvénient n'existe pas avec les convulsivants chimiques qu'on peut administrer en doses plus précises. Nous avons choisi le pentétra-zol pour nos essais.

a) Influence de la MINA sur la toxicité du Pentétra-zol.

Nous avons mesuré la DL 50 du pentétra-zol administré par voie sous cutanée à des lots de rats, ce qui nous a donné le chiffre suivant :

DL 50 Pentétra-zol : $103 \pm 26,5$ mg/kg.

La même mesure a ensuite été faite sur des animaux auxquels nous avons administré préalablement, 10 minutes avant le convulsivant, 25 mg/kg de MINA par voie intrapéritonéale.

DL 50 Pentétra-zol : 39 ± 16 mg/kg.
+ MINA

L'augmentation de toxicité est donc très significative.

b) Influence de la MINA sur la symptomatologie de la crise.

Nous avons employé ici une dose de pentétra-zol non léthale, mais qui donne cependant des crises sur tous les animaux témoins,

...

et nous avons comparé l'effet avec celui produit par la même dose sur des rats auxquels nous avons injecté préalablement (10 minutes avant) des doses croissantes de MINA. Nous avons compté le nombre moyen de crises, et la mortalité dans chaque lot d'animaux. (Tableau XXI).

	Nombre moyen de crises	Symptomatologie	Mortalité
Pentétrazol 75 mg/kg	2	Récupération rapide	0/6
Pentétrazol 75 mg + MINA 10 mg/kg	3,5	Crises subintrantes	2/6
Pentétrazol 75 mg + MINA 25 mg/kg	3,5	Crises subintrantes	6/6
Pentétrazol 75 mg + MINA 50 mg/kg	6	Crises subintrantes	6/6

Tableau XXI. Influence de la MINA sur la symptomatologie et la mortalité des crises pentétrazoliques.

On voit donc que l'augmentation des doses de MINA se traduit par une augmentation du nombre moyen de crises, et du taux de mortalité. De plus, ce qu'il est difficile de faire apparaître sur le tableau, l'aspect des animaux est profondément modifié, et il n'y a plus, entre les crises, de périodes de retour à une allure relativement normale, avec une reprise apparente de la conscience, mais une prostration définitive, entrecoupée de nouvelles crises, jusqu'à ce que la mort survienne. On verra plus tard que cet état comateux peut s'expliquer par la chute du taux des catécholamines.

3 - Action de la MINA sur la strychnine.

Nous avons ensuite examiné l'influence de la MINA sur un produit qui déborde du cadre des convulsivants proprement dits, pour son action médullaire. Nous avons procédé comme pour le

pentétrazol, en comparant les DL 50 de la strychnine sur l'animal témoin et sur l'animal soumis à la MINA. Le rat a encore été choisi pour ces essais qui ont donné les résultats suivants :

DL 50 Strychnine s.cut. : $3,18 \pm 0,4$ mg/kg

DL 50 Strychnine
+ MINA 25 mg/kg : $0,70 \pm 0,2$ mg/kg
10 min. auparavant.

Le résultat est donc encore très clair, et bien que le mécanisme d'action de la strychnine soit vraisemblablement très différent de celui du pentétrazol, la MINA en augmente considérablement la toxicité. Il semble donc que l'action de la MINA ne soit pas très spécifique, et se situe à un niveau commun résultant des actions secondaires aux modifications métaboliques provoquées par les convulsions, que celles-ci soient dues au pentétrazol, à la strychnine ou à l'électrochoc.

Nous avons ensuite essayé de voir si la potentialisation de l'action toxique de la strychnine par la MINA était réciproque. De fait, la DL 50 de la MINA sur le rat passe de 54 ± 5 mg/kg à 28 ± 3 mg/kg si on administre simultanément de la strychnine à la dose de 0,63 mg/kg (1/4 DL 50). Bien qu'il soit difficile de distinguer la part de l'une et l'autre drogue dans ce résultat, on peut cependant estimer à titre d'hypothèse de travail qu'une partie au moins de l'effet de la MINA est modifiée par la strychnine.

4 - Utilisation des modificateurs du chimisme nerveux.

Nous avons tenté d'éclaircir le mécanisme d'action de la MINA dans l'augmentation de la toxicité des convulsivants, en recherchant une interaction possible de l'oxime avec les métabolites connus pour avoir une influence sur le seuil ou le déroulement des crises convulsives, ou encore capables d'atténuer celles-ci.

Nos recherches dans ce sens ont porté essentiellement sur l'acide Gamma-Amino-Butyrique, d'une part et sur les amines biogènes sérotonine, nor-adrénaline et dopamine d'autre part.

Nous avons procédé de deux façons, en modifiant artificiellement le taux naturel de ces substances, et en évaluant ensuite les changements obtenus sous l'action de la MINA ; et en procédant au dosage direct de ces mêmes substances dans le système nerveux des animaux traités par la MINA.

C'est la première partie de ce travail que nous exposerons dans ce chapitre ; les résultats des dosages d'acide gamma-aminobutyrique et des amines biogènes devant être traités avec les chapitres ultérieurs pour respecter la logique de ceux-ci.

a) Acide Gamma-Amino-Butyrique.

Depuis que Roberts, Frankel et Harman (173) ont montré la présence dans le cerveau de grandes quantités d'acide gamma-amino-butyrique (GABA), de nombreux travaux ont précisé le rôle inhibiteur synaptique de cet acide aminé (Roberts, 172). Mais le point qui nous intéresse plus spécialement ici est l'influence du GABA sur le seuil des crises convulsives de type épileptique.

L'influence de la déficience en GABA, (ou en vitamine B6, qui est le coenzyme nécessaire à la décarboxylation de l'acide glutamique précurseur biochimique du GABA) est un facteur convulsivant chez l'enfant (Monoly et coll., Hunt et coll., in Jaspers, 126). Ce fait a également été constaté chez l'animal (Chick et coll., in Jaspers, 126).

L'effet antagoniste du GABA sur la réponse corticale à différents convulsivants (strychnine, picrotoxine, pentétilazol) est d'autre part bien connu (Jaspers, 126, Grundfest, 109). Hayashi (114) a également montré que l'acide Béta-Hydroxy-Gamma-Amino-Butyrique, qui, à l'inverse du GABA lui-même, est capable de passer la barrière hémato-encéphalique lorsqu'on l'injecte dans la circulation, diminue les crises convulsives sur le chien après stimulation du cortex moteur. Ushikubo (197) a, de son côté, décrit le même phénomène. Tower (193), dans l'épilepsie humaine, a montré que le GABA, administré pendant des périodes de trois mois à deux ans, était capable de diminuer le nombre des crises et leur vio-

lence. Ward (201) a trouvé que l'influence anti-épileptique de certaines drogues, comme l'Acétazolamide, était due en réalité à la capacité de ces substances d'augmenter le taux cérébral de GABA.

Un certain nombre d'auteurs ont d'ailleurs voulu faire jouer à l'inhibition de la décarboxylase de l'acide glutamique par la réserpine un rôle dans l'augmentation de la toxicité des convulsivants qui est une des propriétés de cet alcaloïde. (Balzer, Holtz et Palm, 8).

Dans la même optique, il n'est pas impossible de penser que la MINA, qui a des propriétés très semblables à celles de la réserpine, agit par un mécanisme analogue, et a donc une influence sur le métabolisme de l'acide glutamique en diminuant la biosynthèse du GABA. Un fait peut encore renforcer ce point de vue : Tursky (195) a montré que le cyanure de potassium provoque une diminution d'environ 20 % de la teneur du cerveau en GABA. Or, nous savons que de l'acide cyanhydrique est libéré au cours de la métabolisation de la MINA.

Mais il n'est pas non plus impossible que la MINA puisse agir directement sur un point de la chaîne biochimique conduisant à la production du GABA.

Nous avons donc modifié artificiellement le taux de GABA des cerveaux de nos animaux pour voir ce que devenait l'effet de la MINA.

- Déplétion du taux de GABA par les hydrazide.

Un certain nombre d'hydrazides, non substitués ou monosubstitués, de structure générale $R-CO-NH-NH^2$, ou leurs analogues thio, sont des produits convulsivants. Ce sont en particulier la semi-carbazide, la thiosemicarbazide, l'hydrazide de l'acide isonicotinique, la furoilhydrazide (Killam et coll., 132). Les déficiences en vitamine B6 augmentent l'action convulsivante ; l'administration de pyridoxine l'antagonise. En fait, il semble que ces hydrazides produisent une déficience aiguë en vit. B6, bien que le mécanisme biochimique exact de leur action ne soit pas encore

très bien connu (Williams et coll., 203). Finalement, l'abaissement du taux cérébral de GABA que produisent ces drogues semble être en grande partie responsable de leur pouvoir convulsivant (Killam, 132), bien que ce point de vue ait été discuté, en particulier pour la thiosemicarbazide (Baxter et Roberts, 11) et pour l'izoniazide (Balzer et coll., 8).

Quoi qu'il en soit, nous avons entrepris de vérifier une éventuelle interaction MINA-Hydrazide, et pour cela nous avons utilisé le chlorydrate de semicarbazide, moins discuté que son analogue thio.

Nous avons utilisé le rat comme animal d'expérience, en employant la crise audiogène, très sensible aux hydrazides, (Williams, 203) comme test convulsivant. La crise était déclenchée par des ultrasons produits par un sifflet de Hartmann, réglé à la limite de l'audible. La durée de l'exposition aux ultrasons était de 10 minutes au maximum. Tous les animaux étaient testés la veille de l'essai proprement dit, et tous ceux présentant des crises ont été éliminés, de façon à ne conserver que les sujets chez qui une exposition de 10 minutes aux ultra-sons était au-dessous du seuil de déclenchement de la crise. Nous avons utilisé des lots de 5 animaux. Tous les produits ont été injectés 10 minutes avant l'exposition aux ultra-sons.

Les résultats sont les suivants : (Tableau XXII).

	Nombre de crises	Symptomatologie	Mortalité
Témoins	0/5		0/5
MINA 25 mg/kg	0/5	Torpeur	0/5
Chl. SemiCarbazide 100 mg/kg I.P.	0/5	Normal	0/5
Chl. SemiCarbazide 200 mg/kg I.P.	0/5	Normal	0/5
MINA 25 mg/kg + Chl. SemiCarbazide 100 mg/kg	0/5	Pas de crises typiques, mais apparition d'un état comateux	5/5
MINA 25 mg/kg + Chl. SemiCarbazide 200 mg/kg	5/5	Etat comateux	5/5

On voit donc que l'association SemiCarbazide-MINA n'influence pas de façon très nette l'apparition des crises audiogènes, mais que par contre il existe un accroissement de la mortalité très marqué, avec une dissociation des manifestations cliniques, puisqu'il y a apparition d'un état comateux sans crises vraies, ce que nous n'avions encore jamais rencontré. L'explication de ces faits nous semble difficile, et nous n'osons pas la rattacher à une diminution possible du taux de GABA, faute d'avoir pu procéder à un dosage du taux de cet acide aminé dans le système nerveux de nos animaux, au cours de cette série expérimentale.

- Augmentation du taux de GABA.

Il est possible d'augmenter artificiellement le taux du GABA par plusieurs procédés, basés sur l'inhibition de la GABA-transaminase qui métabolise normalement cet acide aminé jusqu'à l'acide alpha-céto-glutarique (Baxter et Roberts, 11). L'un des produits les plus aisés à employer est l'hydroxylamine, inhibiteur préférentiel de la GABA-T au pH de l'organisme (Baxter et Roberts, 11), bien qu'un autre mécanisme ne soit pas à exclure (Roberts et Eidelberg, 174). L'élévation du taux de GABA serait l'explication du pouvoir anticonvulsivant de l'hydroxylamine (Eidelberg, Baxter et coll., 72, Kohli et Kistor, 135).

Nous avons donc utilisé pour élever le taux cérébral de GABA chez nos animaux, l'injection d'hydroxylamine, en la combinant, pour éviter l'effet méthémoglobinisant de cette drogue, avec des injections de bleu de méthylène (Baxter et Roberts, 11, Roberts et Heidelberg, 174). Les doses employées ont été :

Hydroxylamine : 50 mg/kg, une heure avant le convulsivant,
Bleu de méthylène : 20 mg/kg, 20 minutes avant le convulsivant.

Le convulsivant utilisé était le pentétrizol. L'effet obtenu a été comparé à celui produit par 50 mg/kg de MINA et cette dernière drogue a été ensuite administrée conjointement avec l'hydroxylamine. L'animal d'expérience a été le rat. On peut voir

les résultats dans le tableau suivant (XXIII).

	Dose en mg/kg	Symptomatologie	Mortalité
Pentétrazol	75	Crises passagères	0/10
Pentétrazol + MINA	75 50	Etat comateux Fortes crises	10/10
Pentétrazol + Hydroxylamine + Bleu de méthylène	75 50 20	Crises passagères faibles	0/10
Pentétrazol + Hydroxylamine + Bleu de méthylène + MINA	75 50 20 50	Etat comateux Fortes crises	10/10

Tableau XXIII : Interaction de la MINA et de l'hydroxylamine sur le pentétrazol.

L'hydroxylamine, dans les conditions où nous l'avons employée ne protège donc pas du tout contre les effets potentialisateurs de la MINA sur le pentétrazol. Mais là encore, n'ayant pu procéder au dosage du GABA, nous ne savons pas si le taux de l'acide aminé a réellement été modifié chez nos animaux, et nous n'avons pas pu vérifier les chiffres que donnent Baxter et Roberts (11) qui, pour une injection d'hydroxylamine de 48 mg/kg trouvent une augmentation moyenne de GABA dans le cortex de 85 %. Mais si l'on admet des chiffres voisins, il semble bien que le GABA soit incapable de contrecarrer l'effet d'augmentation de la toxicité des convulsivants produit par la MINA, donc que les mécanismes mis en cause ne soient pas les mêmes.

- Interférence du GABOB et de la MINA.

Nous avons alors essayé l'effet de l'acide Béta-Hydroxy-Gamma-Amino-Butyrique (GABOB) sur l'action de la MINA vis-à-vis des convulsivants.

On sait que le GABOB possède les mêmes effets anti-convul-

sivants que le GABA, mais que, à l'inverse de ce dernier, il est capable de passer la barrière hématoencéphalique après injection parentérale. Il est dans ces conditions actif alors que le GABA ne l'est pas.

Nous avons donc choisi ce moyen d'augmenter dans le cerveau de nos rats la richesse en ce genre d'inhibiteur synaptique. Mais dans l'ignorance où nous étions des doses actives du GABOB et de sa durée d'action sur cet animal, nous avons procédé à plusieurs essais préliminaires avec 50 et 100 mg/kg de GABOB, injecté par voie I.P., 1 heure, 12 heures, et 24 heures avant l'administration du convulsivant.

Les meilleurs résultats, du point de vue de la protection des témoins ayant reçu le GABOB seul, par rapport aux animaux n'ayant pas été protégés, sont donnés par la dose de 100 mg/kg administrée 1 heure avant le convulsivant. Après 12 et 24 heures, l'effet du pentétrazol ou de l'électrochoc est sensiblement le même chez tous les animaux, qu'on leur ait ou non injecté du GABOB.

Nous donnerons donc seulement les résultats obtenus sur les rats protégés depuis une heure par 100 mg de GABOB, n'ayant pas jugé utile d'essayer la MINA dans d'autres conditions.

Nous avons pris comme test, pour mettre en évidence à la fois une action sur la léthalité, et sur la symptomatologie du déclenchement des crises, la crise pentétrazolique, le choc électrique atténué (30 Volts, 1/2 seconde) et le choc électrique complet (50 Volts, 1/2 seconde). Les résultats sont donnés dans le tableau XXIV.

En fait, il semble que le GABOB ait une légère action de protection vis-à-vis de la MINA sur le seuil de la crise, dans le cas du choc faible. Mais il est incapable de protéger l'animal si on arrive à déclencher une crise vraie, et il ne diminue pas du tout la mortalité due à la conjonction MINA-Crise convulsive.

...

	Symptomatologie	Temps de récupération	Mortalité
Pentétrazol 75 mg/kg	Crises typiques	10 à 20 min.	0/5
GABOB + 100 mg/kg + 75 mg/kg	Crises atténuées	Immédiate	0/5
GABOB 100 mg/kg + MINA + 25 mg/kg + 75 mg/kg	Crises subintrantes	Etat comateux	5/5
Electrochoc 30 volts 1/2 sec.	Précrise 5/5	Immédiat	0/5
GABOB 100 mg/kg + Electrochoc	Précrise 1/5	Immédiat	0/5
GABOB 100 mg/kg + MINA 25 mg/kg + Electrochoc	Crise atténuée 5/5	Immédiat	0/5
Electrochoc 50 volts 1/2 sec.	Crise typique 5/5	3 à 5 min.	0/5
GABOB 100 mg/kg + Electrochoc	Crise typique 5/5	3 à 5 min.	0/5
GABOB 100 mg/kg + MINA 25 mg/kg + Electrochoc	Crise typique 5/5	Etat comateux	2/5

Tableau XXIV. Interaction GABOB - MINA. Le GABOB a été administré 1 heure avant le choc électrique ou le pentétrazol et la MINA 10 minutes avant.

- Action de l'acide cyanhydrique.

Dans l'optique de Tursky (195), l'acide cyanhydrique diminue le taux de GABA comme nous l'avons dit. On peut donc envisager que l'action de la MINA sur les convulsivants se fasse par cet intermédiaire.

Nous avons cherché à voir si une augmentation artificielle en acide cyanhydrique était susceptible de reproduire les effets de la MINA sur les convulsivants.

Dans un premier temps, nous avons examiné l'influence de l'intoxication cyanée aiguë sur la symptomatologie de la crise convulsive provoquée électriquement. Des lots de rats (5 animaux par lot) ont d'abord reçu des doses croissantes de CNNa par voie sous-cutanée, jusqu'à une dose voisine de la dose minimum léthale puis les animaux ont été soumis à un électrochoc seuil (30 volts 1/2 seconde). Les réactions et la mortalité ont été notées (Tableau XXV).

	Symptomatologie	Mortalité
Témoins	Précrise	0/5
CNNa 1 mg/kg	Crise vraie 2/5	0/5
" 2 "	" " 2/5	0/5
" 4 "	Ne répondent pas au choc	0/5

Tableau XXV : Influence de l'intoxication cyanée aiguë sur les crises provoquées par électrochoc.

On voit donc que l'intoxication cyanée légère n'augmente pas beaucoup la sensibilité des animaux à l'électrochoc, et que même pour une intoxication subléthale (4 mg/kg) cette sensibilité est diminuée. Nous n'avons donc aucune ressemblance avec l'action propre de la MINA.

Mais on peut objecter à cette expérience que la subintoxication aiguë par le cyanure est différente de l'intoxication à développement lent produite par la MINA, qui permet à un certain

nombre de modifications métaboliques de se dérouler. Nous avons tenté de répondre à cette objection en procédant à des perfusions lentes de cyanure, à une vitesse calculée pour simuler la libération de CN par 25 mg/kg de MINA, c'est-à-dire 40 μ g/kg/min., (Chap. IV) compte tenu du titre réel en CN de l'échantillon de CNNa que nous avons utilisé, et ceci pendant un temps équivalent à celui nécessaire pour que les effets de l'oxime se développent (20 minutes). La perfusion a été administrée, par voie intrapéritonéale, pour permettre d'injecter sans troubles de résorption des quantités assez grandes de solution de cyanure nécessaires pour la perfusion de 20 minutes, à des rats non anesthésiés, mais immobilisés dans un cylindre grillagé.

Le nombre de rats de chaque lot était de 12 animaux et l'électrochoc seuil a été employé comme test.

	Symptomatologie	Temps de récupération	Mortalité
Témoins	Précrise 9/12	Immédiate	0/12
CNNa 40 μ g/kg/ min/20 min.	Précrise 10/12	Immédiate	0/12
MINA 25 mg/kg 20 min. avant électrochoc	Crise vraie 12/12	Plusieurs heures	2/12

Tableau XXVI. Comparaison de l'effet de la MINA et de la perfusion lente de cyanure.

On voit donc que là aussi, la perfusion lente de cyanure ne modifie pas sensiblement la symptomatologie de la crise par rapport aux témoins, et n'a aucun rapport avec les effets de la MINA ; on peut donc rejeter dans l'action de cette oxime l'intervention de sa métabolisation en HCN, tout au moins en ce qui concerne son effet sur les convulsivants.

...

b) Inhibiteurs de la Mono-Amine-Oxydase.

On sait que les drogues qui modifient les taux cérébraux des catécholamines, ou de la 5 Hydroxytryptamine, changent la susceptibilité, au point de vue du seuil et de la gravité, à la crise épileptique, chez l'homme et les animaux. C'est ainsi que la réserpine augmente la sensibilité à l'électrochoc, ainsi que l'ont montré Foster et Gayle (84), et Chen et coll. (47) et peut même rendre léthal un choc électrique effectué au seuil normal d'action.

En sens inverse, les inhibiteurs de la Mono Amine Oxydase (IMAO), qui élèvent le taux cérébral à la fois en Noradrénaline, Sérotonine et Dopamine, sont des antagonistes des convulsivants (Grisoni et coll., 108, de Schaepdryver, 183).

L'action de ces produits est toutefois complexe et varie avec leur structure. C'est ainsi que l'izoniazide, très voisine de l'iproniazide, a une action inverse de cette dernière sur les crises épileptiques, et peut même manifester des propriétés convulsivantes propres (Jordan, 127). Son action se rapproche donc de celle des autres hydrazides. Toutefois, le pouvoir inhibiteur sur les MAO de l'izoniazide est bien inférieur à celui de l'iproniazide ce qui peut constituer une explication valable de cette différence d'action.

Le mécanisme d'action des IMAO sur l'effet convulsivant n'est d'ailleurs pas très bien éclairci, pas plus que ne l'est l'influence exacte des différents neuromédiateurs sur la crise épileptique. Garatini et Valzelli (97) attribuent l'effet de la réserpine à l'abaissement du taux de 5 HT, alors que Anderson et coll. (3) ne trouvent pas de corrélation entre le taux cérébral de sérotonine et l'action anticonvulsivante des IMAO. Truitt et Eisenberger (194) par comparaison de l'effet de l' α méthyl Dopa et de la réserpine, trouvent que les modifications du taux de sérotonine ont plus d'importance que celles du taux de noradrénaline, alors que de Schaepdryver et coll. (183) et Heymans et de Schaepdryver (116) pensent que c'est la dopamine qui joue un rôle essentiel.

Quel qu'en soit le mécanisme, l'effet anticonvulsivant de l'iproniazide est toutefois certain (Herold et coll., 115; Garatini et Valzelli, 97). Nous avons donc choisi ce produit comme type des IMAO, pour voir si cette classe de corps était susceptible de modifier la potentialisation de la toxicité des convulsivants due à la MINA.

L'iproniazide (Marsilid) a été administrée aux animaux 20 heures avant les essais de convulsivants et de MINA, de façon à se placer dans la zone d'action maximale de la drogue (Pletscher, 165). La dose utilisée est de 100 mg/kg.

- Electrochoc.

Il s'agit de l'électrochoc seuil (30 volts, 1/2 seconde) appliqué à des lots de 6 rats. La MINA a été injectée 10 minutes avant le choc. (Tableau XXVII).

	Symptomatologie	Temps de récupération	Mortalité
Témoins	Précrise 6/6	Immédiat	0/6
Iproniazide 100 mg/kg	Précrise 6/6	Immédiat	0/6
MINA 25 mg/kg	Crise typique 6/6	12 heures	2/6
Iproniazide 100 mg/kg + MINA 25 mg/kg	Crise atténuée	15 minutes	0/6

Tableau XXVII. Interaction de l'iproniazide et de la MINA sur l'électrochoc seuil.

Si l'iproniazide seule n'exerce qu'un effet limité, on voit cependant qu'il existe une diminution nette du temps de récupération sous l'influence de la MINA, et que la mortalité est moindre. En fait, la combinaison Iproniazide + MINA donne une évolution du choc qui se rapproche nettement de celle qui se déroule chez les animaux témoins.

- Pentétrazol.

On a employé ici le pentétrazol à la dose de 75 mg/kg, par voie sous-cutanée, ce qui rapproche cet essai de celui décrit plus haut (p.122). L'influence de la MINA seule n'a pas été réétudiée. Il est par suite nécessaire de se reporter au tableau XXI pour juger des modifications apportées par l'iproniazide. Les doses de MINA utilisées ont été de 10 et 25 mg/kg, administrées 10 minutes avant le pentétrazol. Les résultats sont donnés dans le tableau XXVIII.

	Nombre moyen de crises par animal	Symptomatologie	Mortalité
Pentétrazol 75 mg/kg	3	Récupération rapide	1/6
Pentétrazol 75 mg/kg + Iproniazide 100 mg/kg	0,8	Récupération immédiate	0/6
Pentétrazol 75 mg/kg + Iproniazide 100 mg/kg + MINA 10 mg/kg	2	Récupération rapide	0/6
Pentétrazol 75 mg/kg + Iproniazide 100 mg/kg + MINA 25 mg/kg	6	Crises subin- trantes pour un rat. Récupération entre les crises pour les autres.	1/6

Tableau XXVIII. Interaction entre la MINA et l'Iproniazide sur les crises pentétrazoliqes.

On voit donc que là aussi, si on compare les résultats obtenus avec ceux du tableau XXI, l'antagonisme entre la MINA et l'iproniazide est incontestable, puisque, pour des doses analogues de MINA, la récupération est plus rapide sous l'influence de l'iproniazide et la mortalité moindre.

On peut donc penser que l'action intime de la MINA sur le système nerveux central, et plus particulièrement son influence sur les convulsivants, a un rapport avec les catécholamines ou la sérotonine, ce qui pourrait également expliquer les effets neuroleptiques de l'oxime, par analogie avec ce qu'on obtient sous l'influence de la réserpine.

c) DiAcétylMonoOxyme.

Bien que la structure chimique de la DiAcétylMonoOxyme (DAM) soit très proche de celle de la MINA (Chap. I), son comportement envers les convulsivants est complètement différent : Gabourel (92) a en effet montré que la DAM protège les souris contre les effets léthaux du pentétrazol (mais non contre ceux de la semi-carbazide). Gabourel et Comstock (93) ont ensuite prouvé que la DAM protège également contre les effets convulsivants et léthaux du 3-5 diméthyl-Butyl-Ethyl-Barbiturate, (alors que la DAM est capable d'augmenter certains effets de l'hexobarbital et du pentotal). Galambos et Pfeiffer (95) ont confirmé ces travaux, et montré que la DAM inhibait l'action facilitante de la réserpine sur le seuil convulsif. Le mode d'action de cette oxime est encore inconnu. Gabourel n'a pas trouvé de changements du taux cérébral de GABA, ni Galambos de modifications des taux de noradrénaline, dopamine, sérotonine et GABA. On en est donc pour l'instant réduit à postuler une hypothétique action propre de la DAM sur les structures responsables des manifestations convulsives.

Malgré cette ignorance du mécanisme d'action de la DAM, il nous a semblé intéressant de voir s'il se développait un antagonisme avec la MINA, étant donné la parenté chimique des deux oximes. Nous avons donc cherché une opposition éventuelle sur le test au pentétrazol chez le rat, avec la technique habituelle.

La DAM (100 mg/kg) et la MINA (25 mg/kg) ont donc été administrées conjointement à des rats, 10 minutes avant l'injection de Pentétrazol. Nous avons obtenu les résultats suivants (Tableau XXIX).

...

	Symptomatologie	Mortalité
Pentétrazol 75 mg/kg	Crises typiques	1/5
Pentétrazol 75 mg/kg + MINA 25 mg/kg	Crises subintrantes	5/5
Pentétrazol 75 mg/kg + DAM 100 mg/kg	Pas de crises, mais tremblements	1/5
Pentétrazol 75 mg/kg + DAM 100 mg/kg + MINA 25 mg/kg	Tremblements Crises atténuées	2/5

Tableau XXIX. Interaction de la DAM et de la MINA
sur la crise pentétrazolique.

La DAM protège donc incontestablement contre les effets potentialisateurs de la MINA, sur la mortalité, mais aussi modifie l'aspect clinique des animaux ; en particulier la phase comateuse prolongée qui est de règle avec la MINA seule est supprimée. En fait, on a presque l'inverse de ce qu'on obtient avec la semi-carbàzide. Mais il nous semble imprudent de tirer des conclusions de cette constatation.

Chapitre XII. MINA et Système Nerveux Central.

Devant l'action neuroleptique de la MINA, et les divers effets de cette drogue sur les centres nerveux supérieurs, nous avons cherché à préciser le point d'impact et le mode d'action au niveau central de l'oxime.

Pour cela, nous avons employé un certain nombre de techniques qui complètent celles qui ont été utilisées dans les chapitres précédents, en particulier celui concernant la mise en évidence de l'action neuroleptique de l'oxime.

1 - Action de la MINA sur l'E.E.G.

Nous avons utilisé pour ces essais des rats avec électrodes implantées chroniques, grâce à une technique personnelle très semblable à celle qui a été publiée depuis par Sayers et Stille (182), et qui permet la mise en place de plusieurs électrodes profondes en différentes zones du cerveau, ce qui est en général difficile à réaliser sur cet animal.

Nous avons pour les essais de la MINA, procédé à la préparation de 6 rats, avec deux électrodes hippocampiques, une dans la région réticulaire antérieure, une dans la région réticulaire postérieure, et deux électrodes corticales, l'une dans la partie antérieure du cerveau, et l'autre dans la région de l'aire visuelle primaire.

La MINA a été, pour l'enregistrement, administrée à la dose de 25 mg/kg. Nous avons procédé à des enregistrements sans stimulation, et avec stimulation stroboscopique au rythme de 5 éclairs par seconde, fréquence préférentielle pour le rat.

Un exemple de stimulation est donné fig. 49, qui est assez typique de l'effet de la MINA, à vrai dire assez variable suivant les animaux. Mais dans l'ensemble, à des doses n'affectant pas la fonction cardiaque, on peut admettre que la MINA diminue la fréquence des ondes rapides de faible voltage, caractéristiques du



Figure 49 : Action de la MINA sur l'EEG du rat vigile porteur d'électrodes implantées chroniques. (HCP : hippocampe ; R. ant. : Réticulée antérieure ; R. post. : Réticulée postérieure ; C. ant. : Cortex antérieur ; C. post. : Cortex postérieur). Enregistrement Monopolaire. Temps d'enregistrement après l'administration de MINA (25 mg/kg) indiqué en minutes.

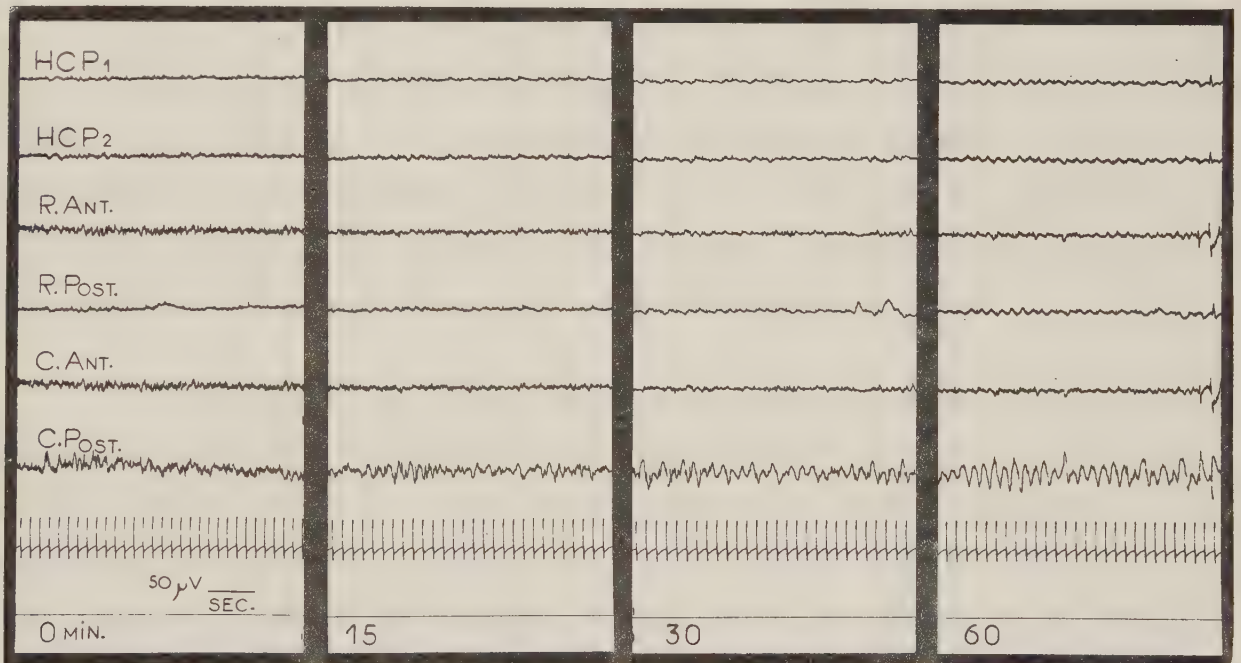


Figure 50 : Tracé analogue à celui de la figure 49, mais avec stimulation lumineuse (enregistrée ligne 7) au rythme de 5 éclats par secondes.

rat vigile, et provoque l'apparition d'ondes plus lentes et plus amples, à 4-5 cycles par seconde, avec tendance à la synchronisation.

Il faut toutefois noter que les modifications de l'EEG sous l'influence de la MINA se développent après que toute action sur le comportement extérieur ait cessé, c'est-à-dire environ en trente minutes, alors que l'apparition d'ondes à 4-5 cycles est maximale en une heure. On doit aussi signaler que ces modifications ne sont souvent pas aussi nettes que sur le tracé présenté ici, et se rapprochent de celles, assez minimes, provoquées par la réserpine, ce qui est une similitude de plus de l'effet de ces deux drogues.

La stimulation lumineuse confirme la cinétique d'action de la MINA sur l'EEG et montre un entraînement très marqué s'étendant à tout le cortex (bien qu'il soit prépondérant à l'aire visuelle) et même aux zones sous corticales ; ce qui cadre donc bien avec les propriétés des neuroleptiques (Fig. 50).

2 - Action de la MINA sur la réaction d'éveil.

Nous avons ensuite recherché l'action de la MINA sur l'EEG du chat, en utilisant une préparation "encéphale isolé", et en complétant l'enregistrement par la mise en évidence de l'action d'éveil par stimulation réticulaire directe, grâce à une électrode de stimulation mise en place par méthode stéréotaxique.

La stimulation était faite par des trains d'ondes rectangulaires de 1 ms de durée, à la fréquence de 350 p/s, d'un voltage de 2 volts maintenus pendant 10 secondes. Les électrodes réceptrices corticales ont été utilisées en montage monopolaire. Enfin, pour faciliter la mise en évidence de la réaction d'aveil, l'animal a reçu une faible dose de chloralose (10 mg/kg) pour provoquer l'apparition d'ondes de sommeil.

Le tracé de la figure 51 montre le résultat de cette expérience. On peut voir (après l'action du chloralose) que la

réaction d'éveil est rapidement bloquée par la MINA (en 15 minutes pour cet essai à la dose de 25 mg/kg) sans que le tracé lui-même soit modifié de façon sensible.

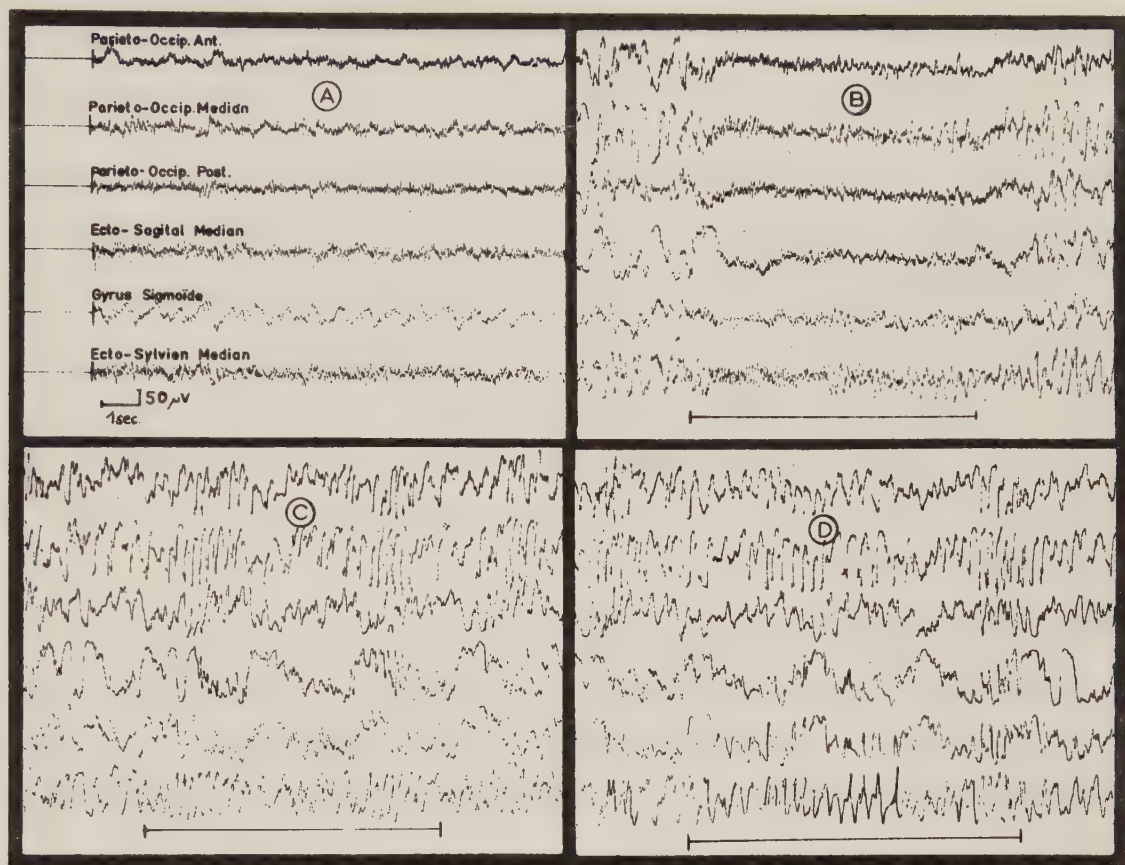


Figure 51 : Action de la MINA sur la réaction d'éveil. (Préparation encéphale isolé de chat).

A : Tracé normal.

B : Après injection I.V. de 10 mg/kg I.V. de chloralose.
La stimulation réticulaire est repérée par le trait horizontal.

C : 15 minutes après injection de 25 mg/kg de MINA. Noter la disparition quasi totale de la réaction d'éveil.

D : 30 minutes après MINA.

Le fait que la MINA soit capable d'empêcher la réaction d'éveil précise que la drogue est vraisemblablement un déprimeur réticulaire.

...

3 - Action de la MINA sur la réflectivité médullaire.

L'action de la MINA sur le système nerveux central semble s'exercer surtout, nous l'avons vu, sur la formation réticulaire. Mais il n'est pas exclu que la drogue ait d'autres points d'impact sur d'autres cellules nerveuses que celle du tronc cérébral.

Nous avons tenté d'objectiver une action de ce genre par l'étude du devenir des reflexes spinaux sous l'action de la MINA. Pour cela, nous avons utilisé des reflexes à circuit neuronique simple (reflexes monosynaptiques), en étudiant l'effet de l'oxime sur les reflexes tendineux. Puis nous nous sommes intéressés à des mécanismes plus compliqués (polysynaptiques) en utilisant les reflexes de défense nociceptifs, dans l'ordre de complexification croissante.

Deux familles de techniques ont été employées pour cette étude : dans la première, nous avons utilisé l'animal anesthésié en enregistrant les contractions musculaires reflexes provoquées par l'étirement mécanique d'un tendon (à l'aide d'un marteau automatique), en ce qui concerne les réflexes monosynaptiques ; et par un choc électrique fourni par un neurostimulateur relié à des électrodes placées sur un nerf (le nerf crural en général), ou piquées dans des régions adéquates (la langue pour les reflexes linguo-maxillaires), pour mettre en évidence les reflexes polysynaptiques.

Dans une seconde série expérimentale, nous avons utilisé la méthode électrophysiologique de l'enregistrement direct des potentiels des fibres des racines motrices antérieures, après stimulation des racines postérieures, sur le chat, dans la préparation classique des racines rachidiennes L6 ou S1. Nous avons travaillé soit sur le chat spinal, pour observer une action pure de la drogue sur la moelle ; ou sur le chat décérébré par section du tronc cérébral inter colliculaire, de manière à observer la part revenant à l'effet de la MINA sur la portion restante de la substance réticulée (c'est-à-dire essentiellement la formation inhibitrice descendante).

...

Les résultats obtenus sont les suivants : dans tous les cas qu'il s'agisse de reflexes mono ou polysynaptiques, la MINA provoque, suivant les doses, une abolition totale de la réponse reflexe dans des délais variables de 10 à 30 minutes environ. Les reflexes obtenus après stimulation mécanique ou nociceptive sont supprimés dans des temps plus brefs que ceux obtenus par stimulation des racines rachidiennes : dans ce dernier cas en effet le caractère massif et total du stimulus reflexogène s'oppose sans doute à la manifestation d'une action partielle de l'oxime, ce qui n'est pas le cas dans la mise en jeu d'une seule zone reflexe plus limitée dans l'espace.

Toutefois, l'action de la MINA n'est pas, dans la plupart des cas, monophasique. Très souvent en effet on assiste, dans un premier temps à une augmentation de la réponse reflexe, pendant une durée assez brève de l'ordre de quelques minutes. Puis la phase de dépression survient et l'abolition totale suit. Ce premier temps est d'importance variable suivant les animaux; il arrive exceptionnellement qu'on ne l'observe pas. Lors des enregistrements électrophysiologiques, il nous a été possible toutefois de constater que l'hyperméflexivité transitoire due à la MINA ne s'observait jamais sur les animaux spinalisés, mais qu'elle était très fréquente chez ceux ayant subi une section haute du tronc cérébral.

Nous donnons de ce phénomène l'explication suivante : dans la phase d'hyper-méflexivité, la formation réticulée inhibitrice descendante, plus sensible à l'action de la MINA, est déprimée la première, ce qui se traduit au niveau du motoneurone par une facilitation relative et par une augmentation d'activité. Puis l'influence de la drogue se manifeste au niveau des neurones effecteurs eux-mêmes, et la totalité de la réponse est déprimée, puis enfin abolie.

Quelques exemples de l'activité de la MINA sur les reflexes peuvent être vus dans les figures 52, 53 et 54.

Dans la figure 52, nous avons combiné sur le même enregis-

trement un reflexe monosynaptique (le reflexe rotulien) et un reflexe polysynaptique (le reflexe linguomaxillaire) chez le Chat, suivant la technique utilisée par Minz (159) pour juger de l'excitabilité médullaire. Sur ce tracé, l'action facilitatrice initiale de la MINA est particulièrement nette.

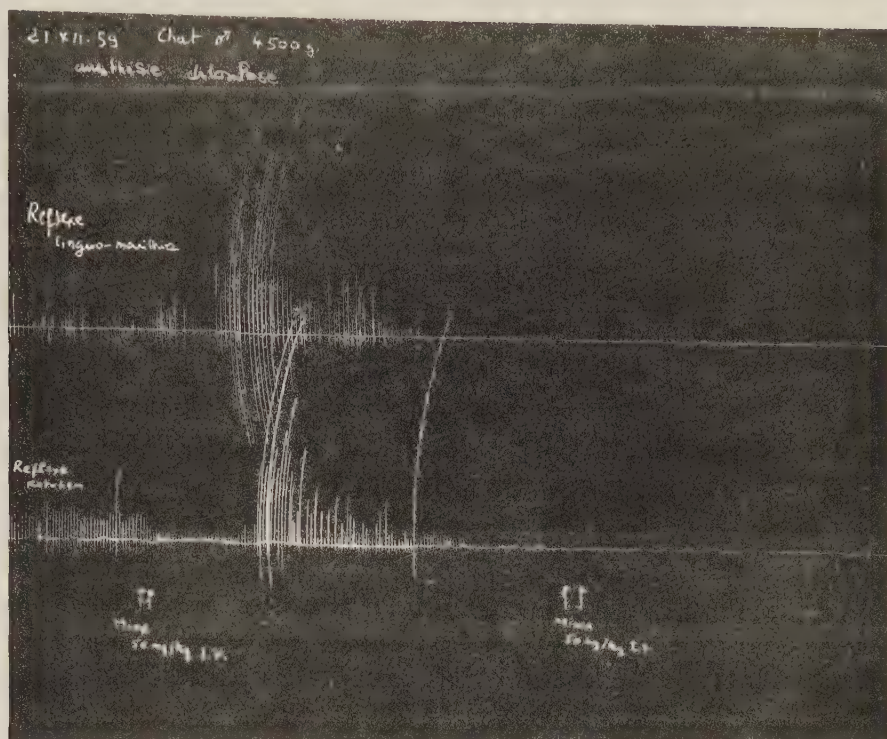


Figure 52 : Action de la MINA sur les reflexes mono et polysynaptiques chez le Chat.

La figure 53 montre la même action, mais sur un reflexe de mécanisme complexe nociceptif. Enfin, la figure 54 représente l'effet obtenu sur un animal spinal, la technique d'enregistrement électrophysiologique ayant été utilisée ici. Aucune trace d'hyper-réflexivité n'est visible sur ce document.

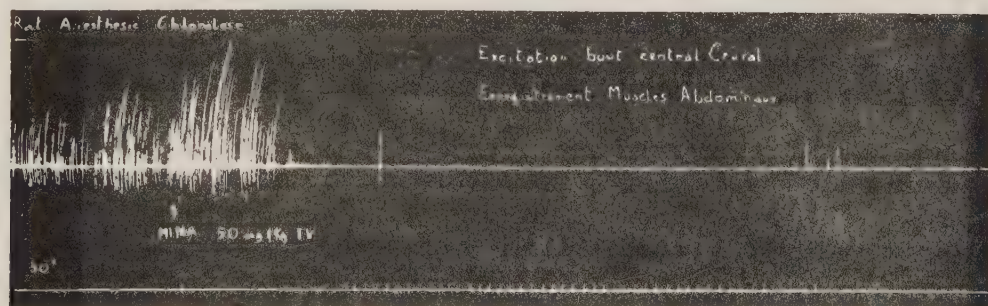


Figure 53 : Action de la MINA sur un reflexe nociceptif chez le Rat.

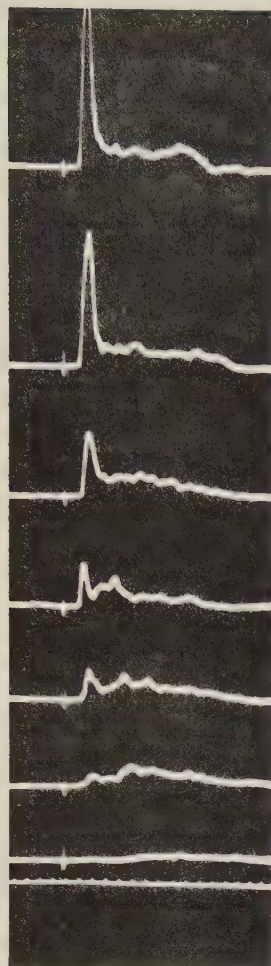


Figure 54 : Action de la MINA sur les reflexes mono et polysynaptiques enregistrés sur la racine antérieure L6 d'un chat spinal, après stimulation de la racine postérieure correspondante (Choc unique de 1 ms, supramaximal).

Le premier tracé a été obtenu avant l'injection de 25 mg/kg de MINA ; les tracés suivants ont été faits toutes les 5 minutes. Le temps est en 1/50e de seconde.

On a pu remarquer que les doses de MINA employées au cours de cette étude étaient relativement élevées. On peut donc se demander, là aussi, quelle est la part respective dans la dépression médullaire constatée d'une action pharmacologique de l'oxime et d'une éventuelle intoxication cyanée, provoquée par la métabolisation de la drogue.

Or, un travail de Nelson et Frank (162) signale que les motoneurones médullaires sont insensibles à l'anoxie. On peut donc penser que la dépression de leur fonctionnement observée n'est pas due à l'action des ions CN⁻, mais à une propriété spécifique de la MINA, ayant peut-être lieu sur le mécanisme d'activation neuro-nique lui-même.

4- Modification de la morphologie des motoneurones.

Certaines drogues agissant sur le système nerveux central provoquent des modifications histologiques neuroniques, portant sur

la morphologie des corps de Nissl. C'est le cas en particulier du malononitrile, dont l'effet a été décrit par Hydden et Hartélius (121) encore que le principal actif en soit sans doute le tri-cyano-amino-propène (DaVanzo et coll., 198).

Bien que la signification fonctionnelle de ces changements, touchant à la physiologie des ARN cytoplasmiques et à leur rôle dans le fonctionnement de la cellule nerveuse soit d'explication difficile, nous avons recherché si la MINA ne possédait pas de propriétés du même genre.

A cet effet, nous avons demandé l'examen histologique de différentes zones de la moelle de rats normaux, traités par la MINA, et enfin à titre de comparaison, intoxiqués par le cyanure de potassium en perfusion lente suivant la technique que nous avons déjà utilisée. De plus, pour pouvoir éventuellement mettre en évidence l'effet d'une anoxie pure, nous avons soumis d'autres animaux à une exposition d'une heure à une atmosphère de 95 % d'azote et de 5 % d'oxygène, avant sacrifice et examen de la moelle.

La mise en évidence des corps de Nissl a été faite par coloration des coupes de moelle au bleu de toluidine tamponné ou à la gallocyanine.

L'examen des motoneurones de rats traités par la MINA à la dose de 50 mg/kg a effectivement révélé une modification très nette de la morphologie des neurones (Fig. 55), qui présentent une densification des corps de Nissl, qui s'agglomèrent et se redistribuent sans disparaître, et sans effet de chromatolyse marquée, en donnant un aspect en motte. Il n'y a pas d'altération nucléaire et nucléolaire visible.

Ces changements de configuration sont d'ailleurs très transitoires, et commencent à disparaître une heure après l'injection de la MINA, le neurone étant redevenu d'apparence normale après deux heures.

De plus, l'action de la MINA est sélective sur les motoneurones et n'intervient pas sur les autres cellules que nous avons eu l'occasion d'examiner (cellules névrogliales en particulier).

Il est vraisemblable qu'on pourrait dresser une carte histologique des zones d'action de la MINA, et sans doute de bien d'autres produits, d'après les modifications histologiques provoquées dans les cellules sensibles à ces agents.

La morphologie neuronique semble en effet variable sous l'influence de nombreuses drogues, et aussi de modifications métaboliques. Parmi les produits chimiques dont nous avons recherché l'influence, l'acide cyanhydrique provoque également des modifications, mais d'apparence assez différentes de celles dues à la MINA. (Fig. 54). On peut voir en effet dans les motoneurones de rats traités au cyanure de potassium (500 μ g/kg/min., ce qui constitue une forte dose), un effet de chromatolyse marqué sans agglomération des corps de Nissl, mais avec par contre une augmentation de la taille du nucléole, et une turgescence du noyau, qui n'existent pas lors de l'action de la MINA.

Bien que les risques de production d'artéfacts soient grands dans les observations de ce genre, et réduisent la spécificité d'une action d'une drogue, on peut penser que l'aspect de l'architecture interne de la cellule nerveuse est un reflet d'une modification métabolique particulière. L'action intime de la MINA serait donc due à un mécanisme différent de celui de l'acide cyanhydrique, ce qui confirme ce que nous avons trouvé à différentes reprises sur les différences d'effet de l'HCN et de la MINA. La métabolisation partielle de l'oxime ne serait donc pas responsable de son action dépressive sur le système nerveux.

En tous cas, les modifications morphologiques que nous avons observées ressemblent beaucoup à celles que produit l'anoxie (Fig. 54). Il peut se trouver là plus qu'une coïncidence, étant donné l'action de l'oxime sur la respiration cellulaire (Chap. XIII). C'est probablement là qu'on peut d'ailleurs trouver l'explication

de la stimulation respiratoire directe exercée par la MINA sur les centres bulbaires.

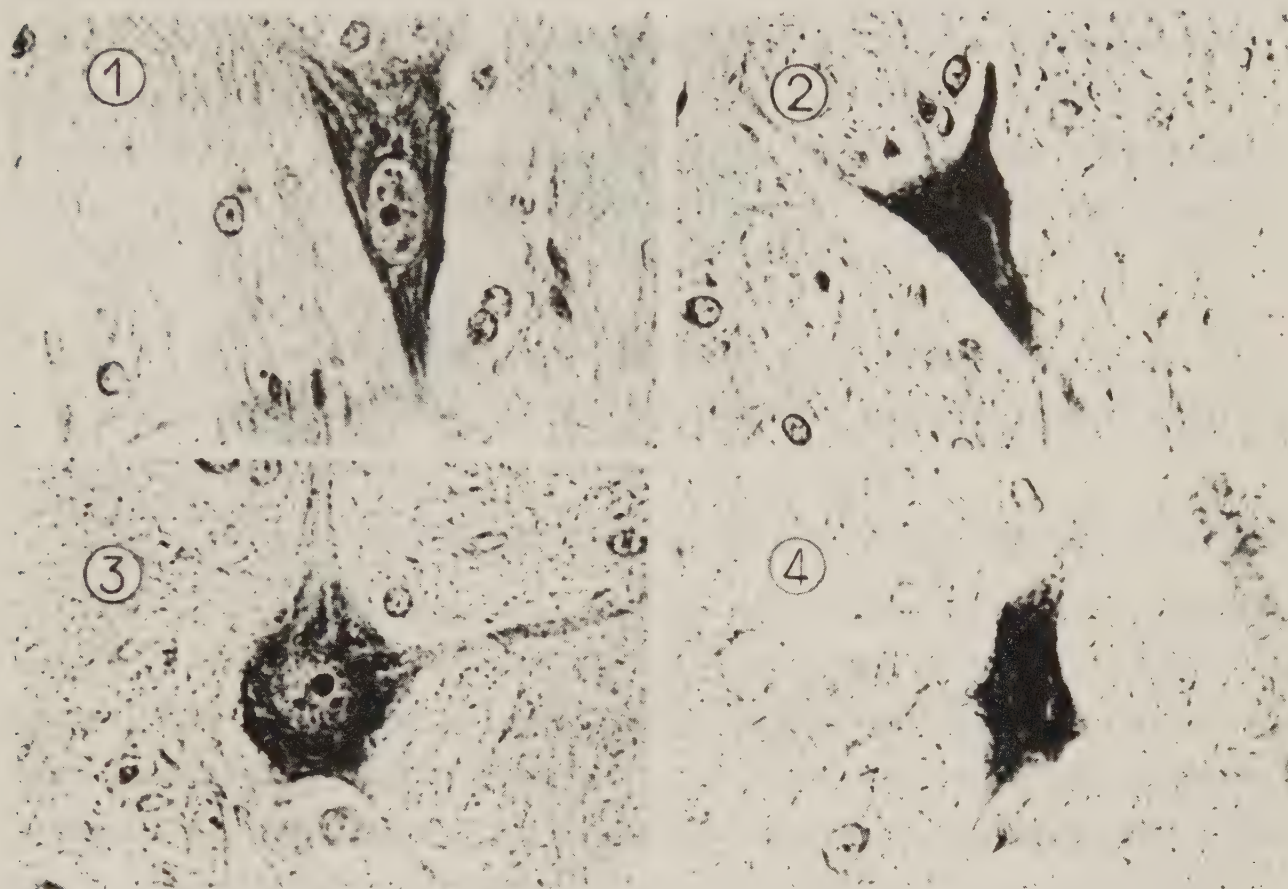


Figure 55 : Action de la MINA sur les corps de Nissl de motoneurones des cornes antérieures de moelle de rat.

- 1) Motoneurone normal.
- 2) 30 minutes après administration de MINA (50 mg/kg)
- 3) 30 minutes après CNNA (500 μ g/kg/min.)
- 4) 60 minutes après inhalation d'un mélange N² 95 % O² 5 %.

5 - Action de la MINA sur les potentiels évoqués corticaux.

Nous avons choisi pour cette partie de notre étude le chat comme animal d'expérience, et les potentiels évoqués des aires visuelles, particulièrement démonstratifs. Ces potentiels étaient obtenus par stimulation directe des corps genouillés externes, au

moyen d'une électrode bipolaire implantée par méthode stéréotaxique. La stimulation consistait en un signal rectangulaire de 0,1 ms de durée, supramaximal, et répété toutes les 10 secondes. L'enregistrement de surface était recueilli directement sur le cortex après ablation de la calotte crânienne de la région occipitale, par une électrode de surface constituée d'une mèche de coton imbibée de sérum physiologique additionné de 3 % de gélose. L'animal, anesthésié au chloralose-nembutal, était maintenu dans l'obscurité pendant toute la durée des enregistrements pour éviter un effet de facilitation par la lumière ambiante.

a) Administration de MINA par voie générale.

Dans une première série d'expériences, la MINA a été administrée par voie I.V. à la dose de 25 mg/kg.

Un exemple du résultat obtenu est donné dans la figure 56.

On peut constater que l'oxime ne déprime que très légèrement le potentiel surface-positif, alors que le potentiel surface-négatif est lui, très amoindri. La MINA est donc capable de jouer un rôle sur les neurones corticaux, et surtout sur leurs connections. (Rappelons que le potentiel surface-Négatif est généralement attribué à l'activation des dendrites apicaux des neurones corticaux).

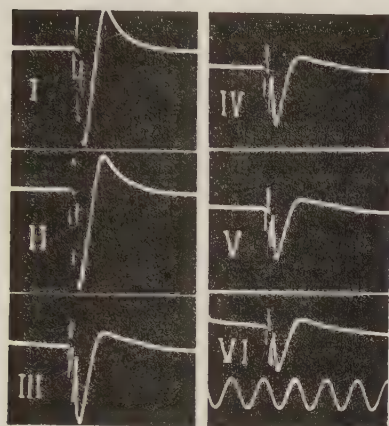
Il y a donc là une contradiction avec l'action assez discrète sur l'électrocorticogramme de l'oxime. Si l'on admet, avec Bishop, Chang et Tasaki (in Purpura, 1966) l'origine dendritique des ondes corticales de l'EEG, cette contradiction est inexplicable.

Par contre, si l'on adopte la théorie de Purpura et Grundfest (in Purpura, 1966) dans laquelle les fluctuations corticales sont des manifestations de potentiels post-synaptiques axo-dendritiques, l'action de la MINA peut s'expliquer, puisque nous avons vu que cette drogue n'a probablement pas d'effet synaptique direct.

Un argument en faveur de cette interprétation peut être trouvé justement dans le fait que la composante surface-positive du

potentiel évoqué n'est presque pas modifiée ; or cette composante correspondrait, d'après Mountcastle (in Purpura, 166, Bremer, 38, Bremer et Stoupe, 36, 37), à une activation axosomatique ; le mécanisme en serait donc voisin, puisqu'il est en partie synaptique, de celui de la production des ondes lentes corticales. On comprend donc que la MINA n'ait pas d'influence là non plus.

Figure 56 : Potentiels évoqués de l'aire visuelle du Chat, obtenus par stimulation directe du corps genouillé externe droit.



- I : Potentiel de contrôle.
II : 5 minutes après MINA 25 mg/kg IV
III : 10 min.
IV : 15 min.
V : 20 min.
VI : 25 min. Temps en 1/100 de sec.

b) Effet de la MINA utilisée localement.

La diminution de la réponse surface-négative des potentiels évoqués n'est pas forcément due à une action locale corticale d'une drogue : Dumont et Dell (70) ont montré en effet l'influence facilitatrice des stimulations réticulaires sur ce phénomène. Or nous savons que la MINA est un dépresseur réticulaire ; donc elle pourrait agir de façon indirecte.

Nous avons donc utilisé le dépôt local, sous l'électrode d'enregistrement, de solutions de MINA à différentes concentrations, allant jusqu'à l'emploi de la drogue pure, sous la forme d'un cristal de l'oxime, dans certains cas particuliers.

Ce mode d'administration a confirmé l'action préférentielle de la MINA sur les potentiels surface-négatifs. Même le produit pur n'a pas supprimé les indentations, alors que la composante surface-négative a été complètement abolie. La grande diffusibilité de la MINA ne permet pas d'expliquer le manque d'effet partiel par

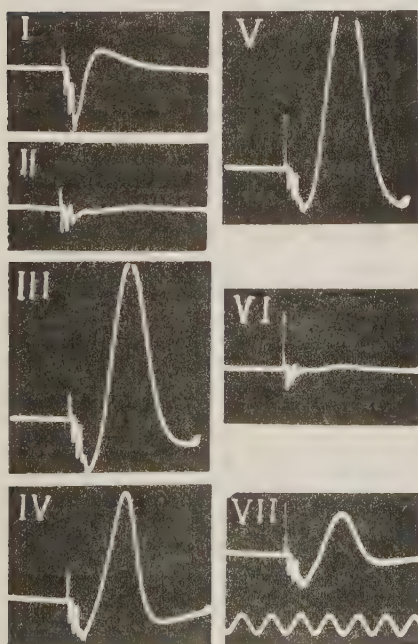
un défaut de pénétration dans les couches moins superficielles du cortex que celles où sont situées les dendrites, et où sont situées les jonctions synaptiques responsables de ces accidents caractéristiques des potentiels évoqués visuels.

L'effet local de la MINA est réversible par lavage.

Nous avons voulu ensuite préciser les phénomènes constatés en utilisant, pour augmenter l'activité surface-négative, l'application d'une solution locale de strychnine à 1/1000, avec aussi la pensée de vérifier si la potentiation de l'action convulsivante de cette dernière drogue (cf. Chap. XI) était un phénomène constant au niveau de toutes les zones du système nerveux.

Or, nous avons eu la surprise de constater que, au niveau cortical, il n'existait pas de renforcement de l'effet de la strychnine par la MINA, mais au contraire un antagonisme très net, ainsi qu'en témoigne la figure 57, où l'augmentation importante de l'amplitude du potentiel surface-négatif dû à la strychnine est entièrement supprimé par la MINA, (à forte concentration toutefois), l'effet obtenu étant d'ailleurs réversible par lavage.

Figure 57 : Action de la MINA appliquée localement sur le cortex.



- I : Potentiel de contrôle.
- II : Après application locale d'un cristal de MINA.
- III : Lavage, puis application locale d'une solution à 1/1000 de sulfate de strychnine. (amplification réduite au 1/2).
- IV : Après injection I.V. de 50 mg/kg de MINA.
- V : Lavage, puis nouvelle application locale de la solution de strychnine.
- VI : Effet d'une application locale de MINA comme en II.
- VII : Lavage. Temps en 1/100 sec.

L'action dépressive de la MINA au niveau dendritique est donc confirmée. Mais par contre, il n'est plus possible de parler d'une synergie directe avec la strychnine, sur des récepteurs identiques. Peut-être ce dernier poison n'agit-il pas de la même façon au niveau des dendrites du cortex, et des motoneurones médullaires, mais il nous semble que l'explication la plus vraisemblable de la dissemblance de l'effet de la MINA au niveau cortical et général vis-à-vis de la strychnine consiste à admettre une action systématique de la drogue, qui, déprimant préférentiellement les zones inhibitrices réticulaires (par son action sur le métabolisme des catécholamines) renforce indirectement l'effet excitant de la strychnine sur d'autres structures normalement freinées.

6 - En conclusion, on est amené à admettre pour la MINA une dualité d'action vis-à-vis du système nerveux :

- D'abord, il existe une action dépressive directe, sans doute d'origine métabolique, sur certaines cellules nerveuses, ou leurs prolongements structuraux comme les dendrites, ainsi qu'en témoignent les modifications des corps de Nissl et l'action sur les potentiels évoqués. Il n'y a par contre, sans doute, pas d'effet inhibiteur direct sur les jonctions synaptiques. Cette action dépressive est sans doute plus importante sur certaines formations comme la réticulée et même sur des parties de celles-ci.

- Mais il y a également une action indirecte sur certaines synapses, appartenant aux formations adrénergiques, et qui rend compte de la potentialisation des phénomènes convulsifs. Il n'est d'ailleurs pas exclu que ces deux actions puissent, le cas échéant, se compléter ou se renforcer mutuellement.

Chapitre XIII. Modifications du métabolisme

cérébral provoquées par la MINA.

Nous avons vu au chapitre XI qu'il était peu probable que la MINA intervienne dans la biogénèse de l'acide Gamma-Amino-Butyrique, d'après les méthodes indirectes utilisées. Mais il nous manquait une preuve formelle de cette non-influence.

Aussi avons-nous entrepris de doser le taux de GABA dans les cerveaux d'animaux soumis à l'action de la MINA. Nous en avons profité pour doser en même temps l'acide glutamique.

Nous avons utilisé 8 lots de 10 rats comme témoins, et 3 lots de 10 rats traités par 50 mg/kg sous-cutané de MINA.

La méthode de dosage des acides aminés cérébraux employée était la chromatographie unidimensionnelle séquentielle de de Ropp et Snedeker (176).

Nos premiers résultats ont montré la présence, en quantité importante, dans les cerveaux des animaux traités par la MINA, d'un acide aminé que nous n'attendions pas, mais qui a été caractérisé comme étant de l'alpha-alanine.

Nous nous sommes dès lors attachés à pratiquer le dosage de ce dernier produit en même temps celui de l'acide glutamique et du GABA.

Nous donnons ici (Tableau XXX), le résultat des séries expérimentales où nous avons fait nos premières mesures. Les taux obtenus sont donnés en microgrammes d'acide aminé par gramme de cerveau frais, et représentent la moyenne des résultats obtenus en groupant par deux les cerveaux des animaux de chaque lot,

Ces dosages confirment donc que la MINA n'a pas d'influence sur le GABA, ni sur son précurseur l'acide glutamique, et qu'on ne peut attribuer l'augmentation de la toxicité des convulsivants provoquée par l'oxime à un mécanisme faisant appel à une modification de l'effet synaptique inhibiteur du GABA, résultant

d'un abaissement du taux de celui-ci. Nos résultats obtenus en utilisant des déviateurs du métabolisme du GABA (Chap. XI) sont donc vérifiés ici.

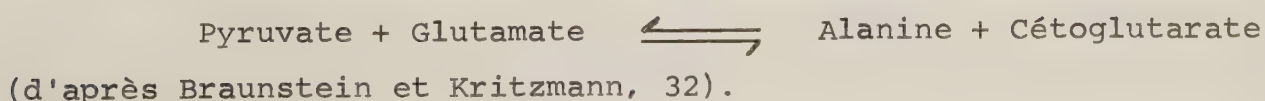
	Ac. Glutamique	Gaba	Alanine
Témoins	1475	170	40
MINA 50 mg/kg 30 minutes	Pas de variation décelable	170	120
1 heure	"	170	120
2 heures	"	160	190

Tableau XXX : Modifications des taux cérébraux de GABA, d'acide Glutamique et d'Alanine provoqués par la MINA. (en $\mu\text{g/kg}$ de cerveau frais).

Mais par contre un fait nouveau, et inattendu, est mis en évidence : c'est l'augmentation considérable (puisque les taux initiaux sont multipliés par quatre), de l'alanine cérébrale.

Des modifications de la composition protéique du cerveau ont été signalées, sous l'influence de la chlorpromazine, par Georghui et coll. (99), et également après administration chronique de bënëactyzine (100). Ces auteurs ont retrouvé dans ces cas une augmentation des quantités d'alanine, parmi d'autres acides aminés, dans les hydrolysats protéiques de cerveau. Il s'agit donc essentiellement d'acides aminés entrant dans des chaînes protéiques, et il ne semble pas que ces augmentations aient la même signification immédiate que celle qu'on trouve sous l'influence de la MINA, et qui concerne des acides aminés libres, non encore incorporés dans des structures protéiques.

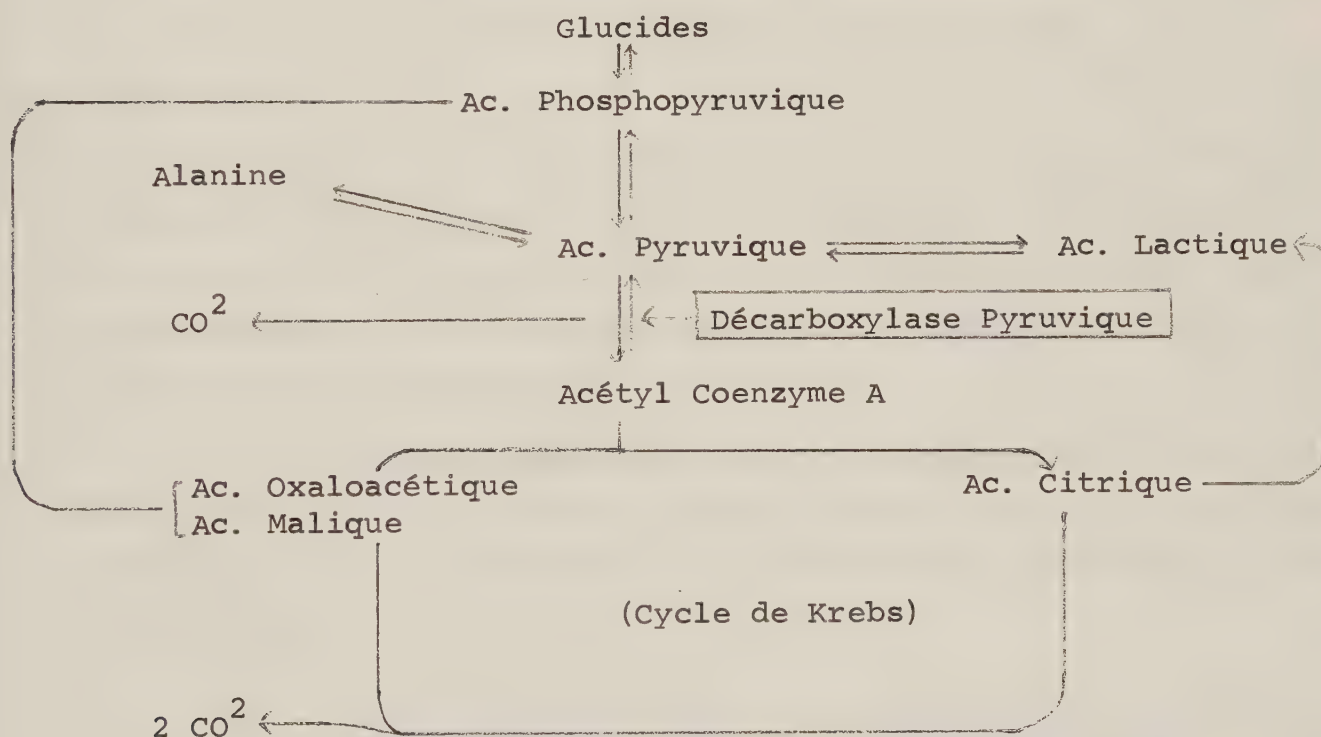
Or, l'alanine provient normalement de l'acide pyruvique, grâce à l'équilibre suivant :



La néoformation de l'alanine dépend donc du métabolisme glucidique. D'après Chain (44), 20 % du glucose dans les tissus isolés est transformé en acides aminés, dont l'alanine. Cette transformation est maximale dans des coupes de cerveau de rat avec des substrats Glutamate + Pyruvate et Glutamate + Glucose (Ruscak et Macejova, 177).

Mais, à l'état normal, la voie principale que suit l'acide pyruvique, dernier terme du catabolisme des glucides, consiste en une transformation par décarboxylation en acétaldéhyde, qui est à son tour transféré sur le cycle de Krebs, la transamination qui conduit à l'alanine étant une voie secondaire.

Nous rappelons ici quelles sont, dans l'étape finale du catabolisme glucidique chez les organismes supérieurs, les chaînes métaboliques normales.



(Emprunté à Polonowsky : Biochimie Médicale, t. II)

L'acide pyruvique est donc normalement, (en aérobiose), décarboxylé. Cette opération s'effectue grâce à un enzyme complexe,

...

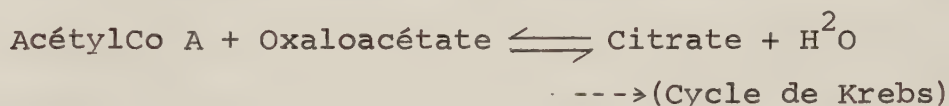
formé de quatre coenzymes : Thiamine pyrophosphate (TPP)
Acide lipofique
Diphosphonucléotide (DPN)
Coenzyme A

La présence de Mg^{++} est nécessaire.

Le mécanisme de transfert est le suivant :

- 1) Ac. Pyruvique + TPP $\rightleftharpoons$ Acétaldéhyde-TPP + CO^2
- 2) Acétaldéhyde-TPP + Ac. Lipofique $\rightleftharpoons$ Ac. Acétyldihydrolipofidique + TPP
- 3) Ac. Acétyldihydrolipofidique + HSCo A $\rightleftharpoons$ AcétylCoenzyme A + Ac. Dihydrolipofidique
- 4) Ac. Dihydrolipofidique + DPN $\rightleftharpoons$ $DPNH^2$ + Ac. Lipofique

Après l'étape 3, le reste acétyl provenant de l'acide pyruvique est transféré dans le cycle de Krebs grâce à l'équilibre :



On peut donc concevoir que le blocage total ou partiel de ce mécanisme complexe de transfert aboutisse à une déviation métabolique de l'utilisation normale de l'acide pyruvique, avec comme résultat le détournement sur une voie secondaire, celle de l'alanine, de ce métabolite en excès.

Ceci devrait entraîner comme conséquence une accumulation dosable de l'acide pyruvique, dans un premier temps, et aussi des modifications plus lointaines de la respiration cellulaire, et des premiers stades du catabolisme des glucides.

I - Influence de la MINA sur la teneur en glucose du sang.

Nous avons tout d'abord procédé au dosage de la glycémie du rat en mesurant l'effet de la MINA sur cette constante.

Dans un premier temps, nous avons dû vérifier que l'oxime n'interférait pas avec la méthode de dosage choisie. La technique

classique de Bertrand s'est en fait révélée inutilisable, car la MINA possède des propriétés réductrices sur la liqueur de Felhing, et fausse le dosage. Nous avons donc utilisé la méthode de Hagedorn et Janssen, qui n'est pas influencée par la présence de MINA dans les milieux où l'on mesure les taux de glucose.

Nous avons employé des lots de rats : 25 animaux témoins et 16 traités par la MINA, à la dose de 50 mg/kg I.P., sacrifiés 30 minutes après l'injection, par section des carotides ; le sang étant recueilli sur un mélange de fluorure de sodium et d'héparine, puis déféqué avant le dosage.

Nous avons obtenu les chiffres suivants :

Glycémie : Témoins :	0,834 mg/ml de Sang	±	0,135
Traités :	0,490 " " "	±	0,96

Le résultat est très significatif ($t = 9,1$). La MINA est donc très hypoglycémiante. Ce résultat peut surprendre, car on aurait pu attendre au contraire une accumulation de glucose parallèle à la nonconsommation d'acide pyruvique. Nous nous contentons pour l'instant d'enregistrer le fait.

II - Influence de la MINA sur le glucose du cerveau.

Nous avons de la même manière dosé le taux des substances réductrices du cerveau de rat, traité ou non par la MINA, après défécation à l'acide trichloracétique, centrifugation en appareil refroidi et neutralisation du surnageant, la méthode de Hagedorn et Janssen étant là aussi utilisée.

Nos chiffres sont obtenus sur 25 témoins et 19 traités par la MINA, également à la dose de 50 mg/kg I.P.

Taux de glucose en mg/g. de cerveau

Témoins : 0,685 ± 89,4

Traités : 0,709 ± 91,5

On a donc une variation en sens inverse de celle du sang.

Mais ici le t. de Student est à la limite de la signification (0,87). L'augmentation apparente du taux du glucose cérébral est donc sujette à caution, bien qu'elle aille dans le sens qu'on pouvait attendre. Il est possible d'admettre toutefois, que l'augmentation de l'acide pyruvique provoque la mise en route d'un mécanisme correcteur qui réduit la glycogénèse, donc la glycémie, le peu de variation du glucose cérébral s'expliquant par le fait qu'on dose là, en partie, du glucose intracellulaire moins rapidement déprimé par les mécanismes correcteurs que celui du sang, et de plus représentant pour une part un taux augmenté, à l'origine, précisément, de la mise en route de la régulation. On aurait donc affaire à un équilibre entre des quantités de sucre cellulaire accrues par la déviation métabolique de l'acide pyruvique, et une fourniture sanguine diminuée, d'où il résulterait, au moment de notre dosage, un taux peu différent de la normale.

De plus, il faut tenir compte de la diminution du taux de Noradrénaline que provoque la MINA (Chap. XIV) et de l'hypoglycémie qui en résulte.

III - Influence de la MINA sur les taux d'acide pyruvique et d'alanine du cerveau.

Comme pour l'étude de la glycémie, il était nécessaire de vérifier, dans les dosages d'acide pyruvique, que la MINA n'interférerait pas avec les résultats, étant donné son groupement $\text{CH}^3\text{-CO}$, qui pouvait réagir dans le même sens que celui de l'acide pyruvique.

Nous nous sommes arrêtés sur la méthode de Dakin et Dodley (61) basée sur la formation de p-nitrophénylhydrazone des acides cétoniques à partir de la 2-4 dinitrophénylhydrazine. Le complexe obtenu est soluble dans les solvants organiques (en l'espèce le xylène) et peut être extrait de ceux-ci par une solution de carbonate de soude, avec obtention d'une coloration pourpre qu'on peut mesurer au spectrophotomètre à 416 m μ .

La solution de carbonate de Sodium employée est celle de Katsuki, Kanahuki et coll. (130) qui remarquent que les solutions trop concentrées de carbonate de Sodium donnent des résultats imparfaits, dus vraisemblablement à une différence de la vitesse d'extraction de deux isomères du complexe pyruvique-dinitrophénylhydrazone, et préconisent l'adjonction de bicarbonate de Sodium.

Nous avons également emprunté aux mêmes auteurs Japonais l'agent déprotéinisant : l'acide métaphosphorique, qui serait le meilleur pour le dosage de l'acide pyruvique.

Les dosages ont été effectués sur des cerveaux de rats sacrifiés par décapitation, le cerveau étant extirpé en chambre froide à 4° pesé, broyé au Potter, puis incubé pendant une heure sous agitation dans une fiole de Warburg à 37°, en présence ou non de MINA et de substrat, (glucose ou pyruvate de soude). Au bout de ce temps, une partie aliquote du broyat était prélevée, déféquée par l'acide métaphosphorique et centrifugée. Le dosage était effectué sur le surnageant.

Dans un premier temps, nous avons donc vérifié que la MINA n'introduisait pas de causes d'erreur dans le dosage. Pour cela, nous avons porté au bain-marie à ébullition pendant 5 minutes les broyats de cerveau, de façon à bloquer tout échange enzymatique, puis nous avons ajouté une quantité connue de pyruvate de soude et de MINA. Le tableau XXXI nous indique que, compte tenu de la faible quantité d'acide pyruvique contenu normalement dans le cerveau, la MINA ne trouble pas le dosage. Nous avons donc conclu à la validité de ce procédé de mesure.

En même temps, nous avons procédé au dosage de l'alanine dans les broyats de cerveau, la méthode utilisée étant la chromatographie sur papier comme dans le § 1.

...

Pyruvate de soude ajouté en μg .	0	0	10	25	0	0	10	25
MINA ajoutée en μg	0	50	50	50	0	100	100	100
Témoin (solution de pyruvate de Na)	Quantité de pyruvate de soude retrouvé en μg							
			10,2	25,6			10	25
Cerveau	3	2,8			1,5	1,5		
Cerveau + Pyruvate			13	29			12	24,8
Cerveau + Pyruvate + MINA			13	29			11,5	25

Tableau XXXI : Dosage du pyruvate de soude en présence d'une quantité connue de MINA sur un broyat de cerveau stabilisé par la chaleur.

Résultats/

a) Etude in vitro.

Dans cette première partie de ce travail, nous avons ajouté la MINA ($25 \mu\text{g/ml}$) au broyat lui-même, et nous avons enrichi le milieu soit en glucose, soit en pyruvate, de façon à modifier l'équilibre du début ou de la fin de la chaîne du catabolisme glucidique.

Nous avons ainsi pu voir que dans un milieu enrichi en pyruvate ($3,16 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), l'acide pyruvique artificiellement apporté est bien métabolisé en alanine durant le temps de l'incubation (1 heure). Mais la MINA ne modifie pas sensiblement les résultats (Tableau XXXII). Il est probable que dans nos conditions expérimentales, la voie normale conduisant au cycle de Krebs est déjà débordée, et que dans ce cas, une hypothétique action de blocage de cette voie, qui est vraisemblable comme nous le verrons plus loin, ne change pas grand chose et n'apporte pas d'augmentation supplémentaire de la synthèse de l'alanine.

Par contre, dans un milieu enrichi en glucose (Tableau XXXIII), si les taux d'acide pyruvique et d'alanine augmentent bien sur les cerveaux non traités par la MINA, ils augmentent encore

bien plus sur les broyats en contact avec l'oxime, car dans ce cas, il y a eu mise en route du catabolisme du glucose, puis blocage de la transformation normale de l'acide pyruvique, d'où accumulation de ce métabolite bien visible par rapport au témoin non traité par la MINA, où la surcharge en glucose aboutit certes à une augmentation du rendement de toute la chaîne, et donc de ses termes partiels, mais où la voie normale de consommation de cet acide est encore en fonctionnement, et se situe dans nos essais au-dessous d'un seuil non atteint par la surcharge provoquée par l'apport artificiel de glucose. C'est ce qui explique la différence trouvée par rapport aux résultats du tableau précédent, où ce seuil de blocage était atteint d'emblée.

Mais la constatation la plus intéressante qu'on peut faire de ces résultats est le fait que l'action de la MINA se situe logiquement à un stade ultérieur à la biosynthèse de l'acide pyruvique, donc au niveau de son utilisation, soit avant l'entrée dans le cycle de Krebs, soit au niveau de celui-ci.

	Témoin cerveau au temps zéro	Après 1 heure à 37°	
		Cerveau seul	Cerveau + MINA
Acide Pyruvique en μg pour 100 g. de cerveau frais	1391	969	945
Alanine en μg pour 1g. de de cerveau frais	113	685	665

Tableau XXXII : Action in vitro de la MINA, à la concentration de 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de broyat de cerveau de rat, dans du Ringer enrichi en acide pyruvique ($3,16 \cdot 10^{-5} \text{ M}$), sur la teneur en alanine et en acide pyruvique.

Les chiffres donnés représentent la moyenne de 5 essais.

...

	Témoin cerveau au temps zéro	Après 1 heure à 37°	
		Cerveau seul	Cerveau + MINA
Acide Pyruvique en μg pour 100 g. de cerveau frais	84	751	1131
Alanine en μg pour 1 g. de cerveau frais	100	257	271

Tableau XXXIII : Action de la MINA in vitro, à la concentration de 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de broyat de cerveau de rat, dans du Ringer enrichi en glucose (1.10^{-2} M), sur la teneur en acide pyruvique et en alanine.

Les chiffres donnés représentent la moyenne de 5 essais.

b) Etude in vitro.

Nous avons alors vérifié si ces résultats, obtenus in vitro sur milieu artificiel, étaient bien transposables in vitro, et si on retrouvait l'augmentation constatée du taux d'acide pyruvique et par conséquent d'alanine.

A cet effet, nous avons injecté à des rats à jeun depuis 18 heures (afin d'éviter une surcharge glucidique alimentaire possible), des quantités croissantes de MINA par voie intra-péritonéale. Les animaux ont été ensuite sacrifiés à des temps variables après l'injection, et nous avons dosé dans leurs cerveaux, prélevés rapidement et refroidis, l'acide pyruvique et l'alanine par la technique décrite plus haut.

Le nombre relativement grand des animaux utilisés ici (118 pour les témoins acide pyruvique, 188 pour la MINA, et 160 pour les témoins alanine contre 410 pour les dosages de cet acide aminé après traitement par la MINA), a permis l'étude statistique des chiffres obtenus, et en a confirmé le résultat : les chiffres obtenus sont en effet très significatifs pour des doses de MINA dépassant 10 mg/kg.

Ces résultats sont donnés dans les tableaux XXXIV et XXXV, et dans la figure 58, qui en est la traduction graphique.

On peut y voir que l'augmentation de l'acide pyruvique et celle, parallèle, de l'alanine, est fonction des doses de MINA utilisées, sans leur être proportionnelle. Elle est très importante pour 50 mg/kg, puisqu'elle atteint, pour l'acide pyruvique, presque 8 fois la valeur trouvée chez les témoins. Mais il s'agit d'un phénomène assez transitoire, puisque la décroissance s'amorce après 1 heure pour une dose de 25 mg/kg de MINA, et 1 heure et demi pour 50 mg/kg. Ceci est une illustration de l'action fugace de l'oxime, qui peut présenter un intérêt dans certains cas d'utilisation pharmacologique de cette drogue. Il est vraisemblable qu'une partie du pouvoir neuroleptique de la MINA, qui, nous l'avons vu, est également de courte durée, est sous la dépendance de l'altération du métabolisme glucidique dans les cellules nerveuses.

Temps (minutes)	MINA en mg/kg (injection I.P.)							
	0		10		25		50	
	I	II	I	II	I	II	I	II
0	118	204 +13,6						
30			32	228 +18,5	30	718 +74	16	1473 +197
60			28	200 +12	22	480 +52	26	1627 +157
90					12	343 +53	16	1711 +202
120							14	1279 +191

Tableau XXXIV : Teneur en acide pyruvique des cerveaux de rat sous l'influence de la MINA.

I : Nombre de rats utilisés.

II : Quantité d'acide pyruvique en $\mu\text{g}/100 \text{ g.}$ de cerveau frais
+ Ecart type.

Temps (minutes)	MINA en mg/kg (injection I.P.)							
	0		10		25		50	
	I	II	I	II	I	II	I	II
0	160	81 +4,4						
30			75	97 +7,5	40	122 +6,6	18	202 +17
60			75	69,5 +7,2	45	107,5 + 7,4	45	263 +22,4
90					30	79,7 +9,1	30	242 +26,4
120							25	247 +24,2

Tableau XXXV : Teneur en alanine des cerveaux de rats sous l'influence de la MINA.

I : Nombre de rats utilisés.

II : Quantité d'alanine dosée en $\mu\text{g}/100 \text{ g.}$ de cerveau frais.

+ Ecart-type.

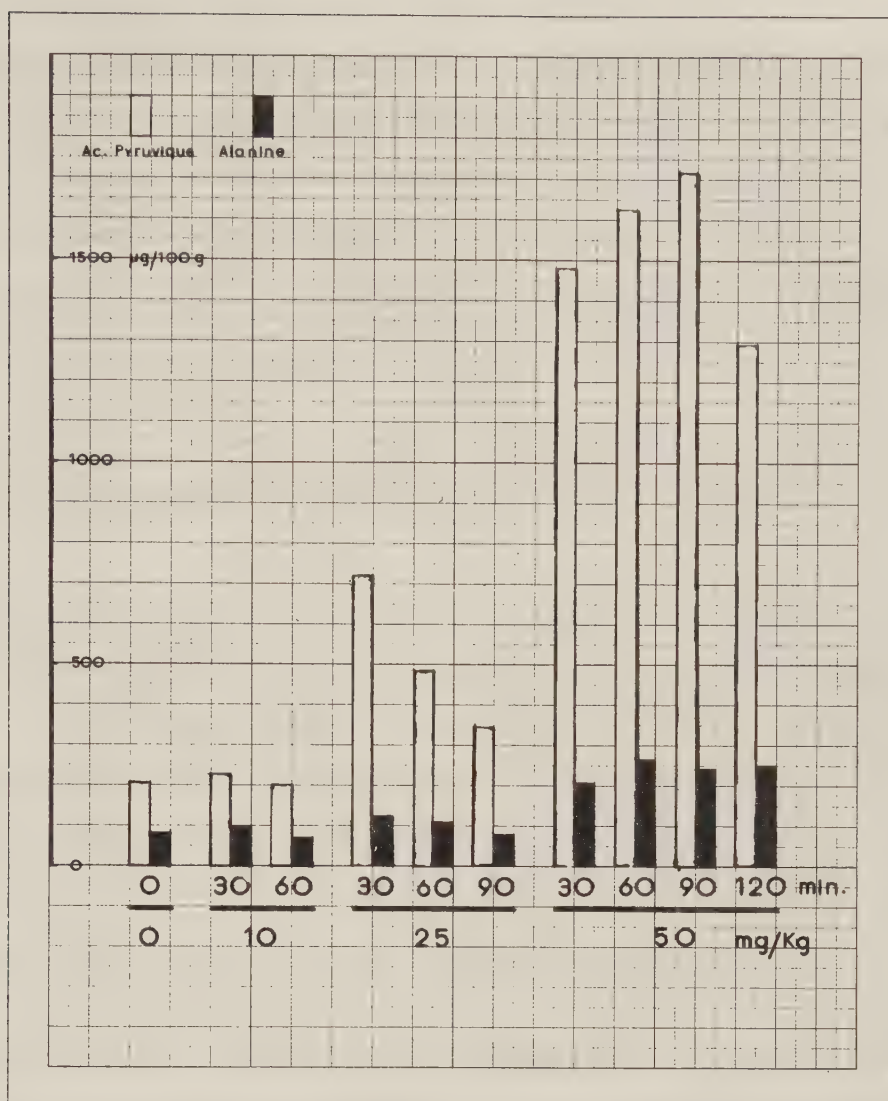


Figure 58 : Combinaison et figuration graphique des deux Tableaux précédents pour des doses de MINA de 10, 25 et 50 mg/kg.

IV - Influence de la MINA sur le système décarboxylasique de l'acide pyruvique in vitro.

L'accumulation d'acide pyruvique peut être provoquée par un défaut du catabolisme normal de cet acide, c'est-à-dire par un blocage des mécanismes de transfert des restes acétyl qui en proviennent après décarboxylation, et entrent dans le cycle de Krebs, (voir Schéma de la page 151).

Ce blocage peut lui-même s'effectuer en plusieurs points: soit au niveau du système enzymatique complexe aboutit au

coenzyme A, soit au niveau du passage des restes acétyl, à partir du Coenzyme A acétylé, sur l'oxaloacétate pour former le citrate, cette réaction étant le point de jonction du cycle de Krebs avec la chaîne métabolique des glucides.

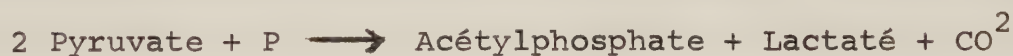
Nous avons donc tenté de mettre en évidence une action de la MINA à ces différents niveaux.

Dans un premier temps, nous avons recherché une éventuelle inhibition du système décarboxylasique pyruvique (ou oxydase pyruvique).

Devant la difficulté d'isoler chacun des constituants de ce système, nous avons utilisé une préparation globale purifiée de la totalité du complexe, décrite par Korkes (136) à partir d'extraits des muscles pectoraux du pigeon. Cette préparation, qu'on peut stocker au froid (-20°) manifeste une bonne activité qu'on peut résumer ainsi :



Cette réaction nécessite la présence de transacétylase, d'orthophosphate et de deshydrogénase lactique. En l'utilisant sous atmosphère d'azote comme le recommande Korkes, on obtient les métabolites terminaux suivants :



On peut mesurer l'activité enzymatique soit en déterminant la vitesse de disparition de l'acide pyruvique, en dosant cet acide par la méthode décrite plus haut, soit en mesurant la quantité de CO^2 dégagé.

a) Dosage de l'acide pyruvique consommé.

On a comparé, par rapport à une quantité d'acide pyruvique introduite dans le milieu indiqué par Korkes au début de la réaction les quantités retrouvées après une et deux heures dans des tubes témoins sans préparation de décarboxylase, et dans des tubes contenant la source enzymatique, avec et sans MINA.

Les chiffres obtenus sont donnés dans le tableau XXXVI.

On peut constater immédiatement que la consommation de l'acide pyruvique est identique, à peu de chose près, avec et sans MINA, bien qu'il semble y avoir dans ce dernier cas une légère diminution de cette consommation, mais trop faible pour avoir une signification en comparaison avec l'accumulation importante constatée in vivo.

Ceci semble bien signifier qu'il n'y a pas d'arrêt de la dégradation de l'acide pyruvique, du moins dans nos conditions expérimentales.

Toutefois, la chaîne de transformation n'est pas complète dans ce milieu et s'arrête au Coenzyme A qui ne peut plus ensuite se débarrasser des restes acétyl qu'il transmet normalement au cycle de Krebs.

De plus, les conditions anaérobies réalisées ici débouchent partiellement sur la transformation de l'acide pyruvique en acide lactique (ce qui ne nécessite que l'intervention du DPNH) et ne représentent absolument pas ce qui se passe in vivo.

Ces faits peuvent expliquer la petite diminution constatée de l'acide pyruvique par rapport au témoin, mais on ne peut parler de blocage de l'activité décarboxylasique capable de rendre compte de la forte augmentation des taux de ce métabolite trouvés sur le cerveau.

b) Détermination de la vitesse de dégagement du CO_2 .

Pour cette contre-épreuve, on a utilisé un milieu réactionnel identique au précédent, mais à des pH différents, pour trouver celui auquel le dégagement de CO_2 est le plus important. La mesure est effectuée au Warburg à 30°, sous atmosphère d'azote.

Les résultats sont consignés dans le tableau XXXVII. Ils confirment les précédents, car la quantité de CO_2 dégagée avec et sans MINA, aux pH utilisés, est comparable ; bien que les mêmes critiques que précédemment puissent être adressées à cette technique,

Pyruvate de soude additionné au milieu et retrouvé au temps 0 : 7040 μg			
		Témoin	MINA 20 μM
1ère heure	Pyruvate retrouvé en μg	4480	4412
	Pourcentage de pyruvate consommé	36 %	37 %
2ème heure	Pyruvate retrouvé en μg	3050	3416
	Pourcentage de pyruvate consommé	57 %	51 %

Tableau XXXVI : Pyruvate retrouvé après incubation en présence ou non de MINA, et pourcentage de consommation par rapport au pyruvate présent dans le milieu de réaction au temps 0. (moyenne de 4 essais).

	pH final à 25°			
	7,4		6,2	
	Témoin	MINA 10 μM	Témoin	MINA 10 μM
1ère heure	29	31	66	66
2ème heure	36	37	65	66,5

Tableau XXXVII : Décarboxylation de l'acide pyruvique (par 1 ml de préparation de décarboxylase pyruvique dilué au 1/2, sous atmosphère d'azote, au Warburg à 30°). Les chiffres donnés représentent les volumes de CO^2 dégagés en μl .

on peut tout de même dire que si la MINA avait une importante activité inhibitrice de cette préparation de décarboxylase, il y aurait une diminution mesurable de la quantité de CO_2 dégagée.

Nous en concluons donc que la MINA n'est pas un inhibiteur de la décarboxylase pyruvique, et qu'il nous faut chercher ailleurs les raisons de son action sur l'accumulation d'acide pyruvique.

V - Influence de la MINA sur le Coenzyme A.

L'étape suivante du catabolisme de l'acide pyruvique fait intervenir le Coenzyme A. On peut admettre comme hypothèse de travail que la MINA empêche soit la formation de l'acétylcoenzyme A à partir du Coenzyme A-HS, soit le transfert lui-même des restes acétyl sur l'oxaloacétate.

Le fait que la MINA possède dans sa structure un reste acétyl rend plausible cette hypothèse, et on peut penser à une inhibition compétitive des réactions où intervient le Coenzyme A.

Nous avons cherché à vérifier les deux possibilités mentionnées ci-dessus par les expériences suivantes :

Nous avons dosé le Coenzyme A Acétylé par la méthode de Kaplan et Lipmann (129) qui consiste à mesurer l'acétylation du sulfanilamide par le Co A, en présence d'ATP, de Co A, d'acétate et d'un extrait de poudre de foie de pigeon séché par l'acétone. Dans un tel milieu, après incubation de 1 ou 2 heures sous agitation à 37°, la quantité de sulfanilamide acétylé est proportionnelle à la quantité de Coenzyme A présent. La mesure de la quantité de sulfanilamide est faite par la technique de Bratton et Marshall (31).

Nous avons alors déterminé quel était le pourcentage de sulfanilamide acétylé en deux heures en présence de 0,2 ml d'extrait de foie de pigeon et de quantités croissantes de MINA, (après avoir vérifié que la MINA n'interférait pas dans le dosage du sulfanilamide.

Pourcentage de sulfanilamide acétylée en 2 heures (moyenne de 3 dosages).			
MINA en μM			
0	10	20	30
100	82	65	49

Tableau XXXVIII : Influence de la MINA sur l'acétylation du sulfanilamide in vitro.

On peut donc considérer que la MINA est capable de bloquer le transfert des radicaux acétyl à partir du Coenzyme A, ce qui explique l'accumulation d'acide pyruvique qui ne peut plus suivre sa voie normale de métabolisation et doit alors être détournée sur une voie auxiliaire, celle de l'alanine.

La méthode que nous avons utilisée souffre du défaut de n'être qu'un modèle biologique, le sulfanilamide n'étant évidemment pas une substance naturelle de l'acétylation biologique.

Nous n'avons malheureusement pas eu la possibilité de vérifier si la MINA ne modifiait pas les équilibres du cycle de Krebs, ce qui aurait nécessité l'emploi de produits marqués que nous n'avions pas les moyens matériels d'utiliser. Mais nous pensons qu'étant donné la réversibilité de toutes les réactions du cycle de Krebs, il n'est guère possible d'envisager une interruption en un point de ce cycle sauf à son stade de rattachement avec le catabolisme glucidique, c'est-à-dire précisément au point de transfert sur l'acide oxaloacétique des radicaux acétyl du Coenzyme A. Sinon, l'équilibre rompu devrait se rétablir sans grandes conséquences sur l'acide pyruvique, à moins de supposer des inhibitions multiples assez peu probables.

Notre opinion est du reste renforcée par le fait que, comme nous l'avons dit, la molécule de MINA est assez voisine de celle de l'acide acétique et semble facilement pouvoir jouer le

rôle de substrat à la place de ce dernier, ce qui explique aisément en ce carrefour biologique qu'est l'acétylation à partir du Coenzyme A une inhibition qu'il serait plus difficile de comprendre plus loin, au niveau des acides tricarboxyliques.

Nous pensons donc que le blocage du catabolisme de l'acide pyruvique reçoit une explication satisfaisante. Mais il est probable que cette action de la MINA sur le métabolisme des glucides a des conséquences subtiles qui sont à la base des propriétés de l'oxime sur les cellules, en particulier sur les nucléoprotéines.

VI - Influence de la MINA sur la respiration cellulaire.

Il nous restait à voir quelles sont les modifications éventuelles induites par la MINA sur la consommation d'oxygène par le tissu nerveux, qui nous intéresse le plus, en ce sens qu'il est un des points majeurs de l'action de l'oxime.

C'est pour cela que nous avons entrepris d'étudier la respiration de coupes ou de broyats de cerveau de rat, sous l'influence de la MINA.

Nous rappellerons tout d'abord quels sont les rapports de la consommation d'oxygène avec le métabolisme du glucose, dans les conditions normales aérobies.

Globalement, on peut écrire :



Mais on peut décomposer cette réaction, car la consommation d'oxygène se produit en deux points très différents du métabolisme glucidique, comme on peut le voir dans le schéma suivant :

...

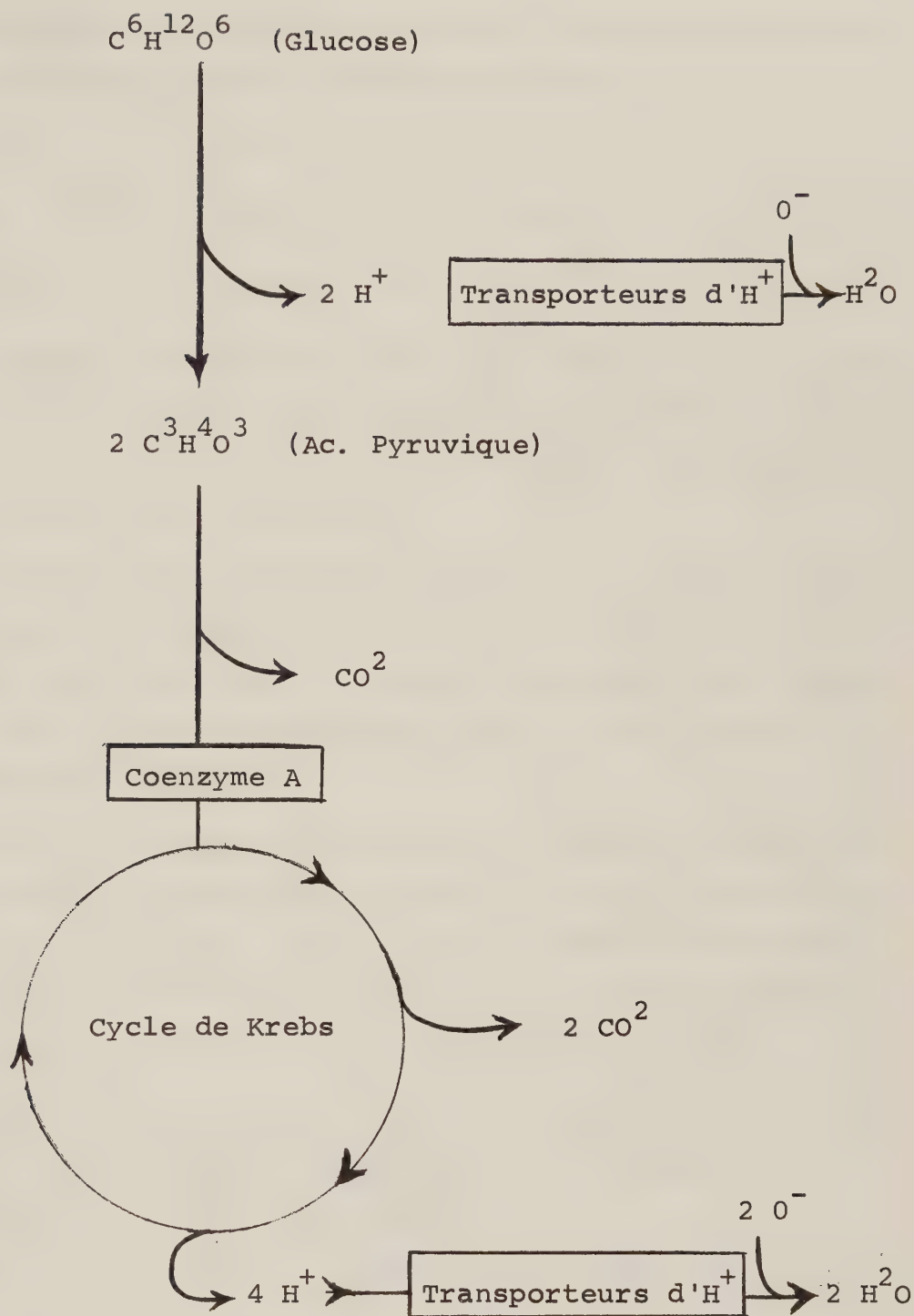
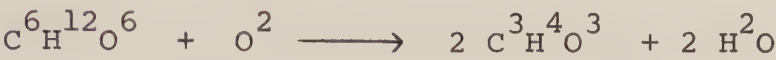


Schéma de la consommation d'Oxygène et du dégagement de CO^2
au cours du catabolisme du glucose.

(élaboré d'après "Intermediary Metabolism" de H.J. Sallach et
et R.W. Mc Gilvery, et Polonowsky, Biochimie Médicale).

Globalement, on peut écrire, pour la première partie du catabolisme glucidique (jusqu'à l'acide pyruvique) :



et pour l'étape suivante (cycle de Krebs compris) :



La consommation d'oxygène est prépondérante dans la seconde partie de cette chaîne, donc après le point d'impact de la MINA. Il ne faut donc pas s'attendre à une action très marquée de l'oxime sur la respiration cellulaire.

Du point de vue expérimental, nous avons mesuré la consommation d'oxygène de coupes ou de broyats de cerveau de rats in vitro (donc dans des conditions où la MINA ne produit pas d'acide cyanhydrique) dans du Ringer phosphaté à pH 7,4, en utilisant la technique classique de Warburg.

On peut voir dans le tableau XXXIX, obtenu à partir de chiffres mesurant la consommation d'oxygène de broyats de cerveau sans adjonction de substrats, que la MINA, au-dessus d'un seuil de concentration de $1 \cdot 10^{-3}$ M, exerce une nette inhibition de la respiration, dans les conditions expérimentales employées.

Temps en minutes	mm ³ d'oxygène absorbés pour 100 mg de produit sec, et pourcentage d'inhibition de la respiration par rapport au témoin.							
	Témoin	MINA 10 ⁻³		MINA 5. 10 ⁻³		MINA 10 ⁻²		
0-60	200	149	25%	143	28%	146	27%	
0-120	325	265	18%	281	13%	271	16%	
0-180	417	346	17%	371	11%	371	11%	
0-240	479	411	14%	409	14%	414	13%	

Tableau XXXIX : Inhibition de la consommation d'oxygène par la MINA à différentes concentrations, sur un broyat de cerveau de rat, au Warburg à 37° dans un milieu Ringer phosphaté, après incubation de 30 minutes.

...

L'inhibition constatée peut donc correspondre au blocage partiel du transfert à partir du Coenzyme A des reste acétyl sur le cycle de Krebs, car il est difficile d'établir une correspondance exacte entre des essais effectués in vitro dans des conditions assez différentes. Le point important nous semble être la confirmation d'une action de la MINA sur les phénomènes de la respiration cellulaire par l'intermédiaire du métabolisme glucidique.

Mais sur un autre plan, ces essais in vitro ne reflètent que d'une manière imparfaite ce qui peut se passer dans un organisme soumis à l'action de la MINA, du point de vue de la respiration cellulaire, du fait, d'une part, de la libération d'acide cyanhydrique et du rôle inhibiteur de la respiration de ce poison, et d'autre part de la métabolisation rapide et de l'élimination de la MINA, toutes choses qui n'existent pas in vitro.

Nous avons donc vérifié l'action sur la respiration des tissus nerveux et la MINA in vivo, chez des animaux ayant reçu une injection de la drogue avant d'être sacrifiés, dans des conditions où l'oxime a pu être métabolisée en acide cyanhydrique.

Pour cela, nous avons injecté à des rats 50 mg/kg de MINA, et les animaux ont été sacrifiés 15 minutes après, les cerveaux extirpés et broyés, et la mesure de la consommation d'oxygène dans les broyats a été faite au Warburg et prolongée pendant 4 heures, par comparaison avec des témoins.

Les résultats (tableau XL) montrent que dans ce cas il n'y a qu'une faible inhibition de la respiration, qu'on peut considérer comme négligeable.

...

Temps en minutes	Témoins	MINA 50 mg/kg	% d'inhibition
0-60	428	414	- 3 %
0-120	854	836	- 2 1/2 %
0-180	1289	1158	- 1 %
0-240	1657	1607	- 0,3 %

Tableau XL : Consommation d'oxygène par des broyats de cerveau de rats ayant reçu 50 mg/kg I.P. de MINA 15 minutes avant le prélèvement du cerveau. Les chiffres donnés représentent la consommation d'oxygène en mm^3 , au Warburg à 37° en Ringer phosphaté. (Moyenne de 6 mesures).

Bien que la MINA soit donc théoriquement capable de bloquer partiellement la respiration, cet effet ne semble avoir qu'une faible importance in vivo. Les différences constatées avec les résultats in vitro s'expliquent aisément par les différences en concentration effective dans les cellules, et la persistance de la MINA dans le milieu d'incubation, dans les essais in vitro, alors qu'elle disparaît assez rapidement après injection à un animal. La métabolisation en acide cyanhydrique ne semble pas intervenir beaucoup non plus, ce qui confirme l'opinion de Fernandez (82) qui a montré que de faibles concentrations en cyanures dans les tissus (jusqu'à 2 $\mu\text{g/ml}$) ne dépriment pas la consommation d'oxygène par le cerveau, le foie et les reins.

Nous avons du reste vérifié directement ce fait en administrant du cyanure de potassium en perfusion lente intrapéritonéale à des rats non anesthésiés, à la dose de 40 $\mu\text{g/kg/min}$, pendant 30 minutes pour simuler la libération d'HCN par 50 mg/kg de MINA. Les cerveaux de ces rats ont ensuite été prélevés et la consommation d'oxygène a été faite pendant une heure seulement. Pendant ce laps de temps, nous avons, dans ces conditions expérimentales, trouvé une augmentation, et pas une diminution, de la consommation d'oxygène de + 3,8 % par rapport aux témoins. La production d'HCN

par la MINA ne peut donc pas avoir beaucoup d'importance, dans les effets de la drogue sur la respiration des cellules nerveuses, ce qui confirme bien nos expériences précédentes.

En somme, s'il est clair que la MINA intervient dans le métabolisme des glucides, son effet est beaucoup moins prononcé sur la respiration cellulaire et ne doit pas passer par ce mécanisme pour exercer son action caractéristique sur le système nerveux central, bien qu'il soit logique de penser que c'est le début de la dépression respiratoire cellulaire au niveau des centres respiratoires qui déclenche l'effet puissant de stimulation de ces centres que nous avons vu, à titre de mécanisme correcteur. Mais on peut envisager pour ces zones une sensibilité beaucoup plus grande que pour le reste du système nerveux, et qui permet de déclencher une réponse pour une variation imperceptible dans nos dosages.

Il resterait à savoir dans quelle mesure la modification du métabolisme glucidique due à la MINA intervient dans les propriétés neuroleptiques de l'oxime et quelle est la part qui revient à l'effet sur la biosynthèse de la noradrénaline, qui est une autre des propriétés de la drogue que nous étudierons dans le chapitre suivant.

Certains neuroleptiques sont, par des mécanismes variés, des inhibiteurs de la respiration cellulaire : la chlorpromazine possède cette propriété d'après Courvoisier, et Peruzzo et Forni (164). Ceci est dû, d'après Decsi (65) à l'inhibition de la phosphorylation oxydative, et de l'adénosine triphosphatase. D'autres tranquillisants que les phénothiazines (méprobamate, bémactazine) auraient les mêmes propriétés ; du reste l'auteur cité fait de cette double inhibition la base biochimique de l'effet tranquillisant.

Toutefois, Davis (64) tout en confirmant l'inhibition de l'adénosine triphosphatase par les phénothiazines, ne trouve

qu'une activité inhibitrice très faible pour le halopéridol et le chlordiazépoxyde, et inexistante pour la réserpine et le pento-barbital. Aussi il conclut prudemment qu'il peut y avoir une corrélation entre l'inhibition de l'ATPase in vitro et certains effets sur le système nerveux central in vivo, seulement pour les phénothiazines substituées.

Donc, pour en revenir à la MINA, il n'est pas impossible que le mécanisme d'inhibition respiratoire cellulaire et l'effet sur les catécholamines jouent dans l'action neuroleptique de l'oxime, ou même se complètent. Mais ce que nous savons des effets centraux des catécholamines cadre mieux avec une action neuroleptique qu'un mécanisme agissant sur le métabolisme glucidique. Aussi ce dernier phénomène pourrait bien n'être qu'une action secondaire de la MINA, qui n'a peut-être pas beaucoup d'importance pour l'explication des résultats pharmacologiques de l'administration de la drogue, sauf pour son effet sur les centres respiratoires.

Chapitre XIV. L'action de la MINA sur la sérotonine et les catécholamines.

Nous avons vu au chapitre XI que les inhibiteurs de la Mono-Amine-Oxydase diminuaient l'effet de la MINA sur les convulsifs ce qui implique dans le mécanisme d'action de cette drogue une interaction avec le rôle physiologique de la sérotonine ou des catécholamines. Le fait que ces neuromédiateurs semblent bien avoir une influence importante sur le seuil et le déroulement des crises convulsives renforce cette hypothèse, et ceci d'autant plus qu'une action de la MINA par l'intermédiaire du GABA a été exclue.

Enfin, la similitude, sur de nombreux points, des effets de la MINA et de la réserpine est un argument supplémentaire pour rechercher si cette ressemblance est liée à des propriétés analogues des deux drogues sur les taux cérébraux de sérotonine, de noradrénaline ou de dopamine, qu'il s'agisse d'une inhibition de la synthèse, de la libération ou du stockage de ces médiateurs.

1 - Action de la MINA sur la sérotonine.

L'influence sur les crises convulsives de la 5-Hydroxytryptamine est diversement appréciée suivant les auteurs : pour Garatini et Valzeli (97), Truitt et Eisenberger (194), la diminution du taux cérébral de cette amine biogène augmente la violence et diminue le seuil des crises, alors que pour de Schaepdryver, la 5HT n'a pas d'influence, et le rôle essentiel est joué par la dopamine.

Pour vérifier si la MINA avait une influence sur la sérotonine, comme la réserpine, nous avons dosé dans des cerveaux de rats les taux de 5 HT, après injection ou non de MINA, la réserpine étant choisie comme produit de référence, après administration de 1 mg/kg de cet alcaloïde, 24 heures avant la mesure, alors que pour la MINA nous avons utilisé des doses de 25 et 50 mg/kg, avec un délai correspondant au temps moyen du maximum d'efficacité

de l'oxime comme neuroleptique, c'est-à-dire 30 minutes après l'injection.

Nous avons utilisé comme méthode de dosage de la 5 HT la technique de Bodgansky, Pletscher et coll. (20) bien détaillée par Udenfried (196). Nous avons travaillé sur des cerveaux de rats, homogénéisés dans une solution d'acide chlorydrique à 0,1 N d'où la sérotonine est extraite par le butanol à pH 10, puis remise en phase aqueuse par l'heptane, enfin dosée par spectrofluorométrie à 550 m μ , après activation à 295 m μ .

Nous avons surtout cherché à savoir si l'augmentation des effets des convulsivants (pentétrazol et électrochoc) était en relation avec une éventuelle modification des taux cérébraux de sérotonine induite par l'oxime. Cette dernière a été administrée 15 minutes avant le convulsivant, le dosage étant pratiqué encore 15 minutes après, de façon à retrouver le temps de 30 minutes au total que nous avons choisi pour l'étude de l'action de la MINA sur la sérotonine elle-même, ceci pour faciliter les comparaisons.

Le tableau XLI, qui montre les résultats obtenus, permet de constater que la MINA ne modifie pas de façon significative les taux cérébraux de sérotonine, ce qui est très différent de l'action de la réserpine. Le pentétrazol et l'électrochoc provoquent une augmentation légère, mais significative, de la sérotonine. Ce fait a été signalé par plusieurs auteurs (Garatini et Valzeli, 97; Garatini et Kato, 96, Breintner et coll., 35). En sens inverse, Bonnycastle (27) n'avait pas admis cette augmentation (qui semble pourtant bien réelle, quoique faible, dans nos conditions expérimentales tout au moins). Mais, par rapport à ce léger accroissement en 5 HT, la MINA n'a aucun effet, aussi bien dans le cas du cardiazol que dans celui de l'électrochoc. On peut donc exclure, dans le mécanisme de potentiation de la toxicité des convulsivants par l'oxime, la sérotonine comme intermédiaire, et par la même occasion, le rôle de ce médiateur dans l'évolution des crises convulsives peut être mis en doute. Nous rejoignons donc l'opinion de

Anderson et coll. (3) qui ne trouvent pas de corrélations entre le taux cérébral de 5 HT et les phénomènes convulsifs.

	Dose (mg/kg)	Nombre d'animaux	Taux de Sérotonine (μ g/g. de cerveau) $\pm$ E.S.	t. de Student
Témoins		250	0,52 $\pm$ 0,007	
MINA	25	54	0,55 $\pm$ 0,014	1,4 (1)
MINA	50	54	0,55 $\pm$ 0,015	1,35 (1)
Réserpine	1 (4)	100	0,32 $\pm$ 0,008	13 (1)
Pentétrizol	100	70	0,60 $\pm$ 0,014	3,8 (1)
MINA Pentétrizol	25 100	36	0,60 $\pm$ 0,016	0 (2)
MINA Pentétrizol	50 100	36	0,56 $\pm$ 0,025	1 (2)
Electrochoc	(5)	52	0,56 $\pm$ 0,009	2,40 (1)
MINA Electrochoc	25 (5)	30	0,57 $\pm$ 0,015	0,04 (3)
MINA Electrochoc	50 (5)	30	0,60 $\pm$ 0,013	1,79 (3)

Tableau XLI : Effet de la MINA sur les taux cérébraux de Sérotonine.

- (1) t. calculé par rapport aux témoins.
- (2) t. calculé par rapport aux traités par le Pentétrizol.
- (3) t. calculé par rapport aux traités par Electrochoc.
- (4) Dose administrée 24 heures avant la mesure.
- (5) Choc unique supramaximal.

Toutefois, en ce qui concerne la MINA, il ne faut pas oublier que cette drogue manifeste une action anti-sérotonine nette (Chap. VI).

Bien que cet effet ne s'étende pas forcément au système nerveux central, il n'est pas exclu non plus. En soi, le pouvoir anti-sérotonine d'une drogue n'influence pas son comportement vis-à-vis des convulsivants, mais il peut contribuer à créer un déséquilibre sérotonine-catécholamines, qui, lui, peut avoir une importance.

2 - Action de la MINA sur la noradrénaline.

Nous avons poursuivi notre travail par la recherche des effets de la MINA sur la noradrénaline cérébrale, en procédant comme pour la sérotonine, à des comparaisons avec la réserpine, et en examinant l'effet produit par les associations MINA-convulsivants.

La méthode d'extraction utilisée est celle de Shore et Olin (185) qui consiste à traiter les broyats de cerveaux dans l'acide chlorydrique M/100, par le butanol à pH 2, d'où la noradrénaline est réextraite par l'heptane en présence d'HCl N/10. Le dosage proprement dit s'effectue après oxydation de la noradrénaline en noradrénolutine par le ferricyanure de potassium, par spectrofluorométrie à 540 mμ, l'excitation étant faite à 410 mμ.

Nous avons évalué les taux de noradrénaline du cerveau, mais aussi des surrénales de rats, afin de voir si l'action de la MINA s'étendait aux structures adrénergiques extracérébrales. Dans ce dernier cas, nous avons procédé en plus du dosage de la noradrénaline, (qui est seule présente dans le cerveau) au dosage parallèle de l'adrénaline, qui se trouve en quantité importante dans les surrénales. La technique de dosage est la même pour les deux produits, mais, dans le cas de l'adrénaline, la longueur d'onde d'excitation est de 436 mμ, et la lecture se fait sur 530 mμ.

a) Effets de la MINA sur la noradrénaline cérébrale.

Contrairement à ce qui se passe pour la sérotonine, la MINA est capable de déprimer profondément les quantités de noradrénaline retrouvées dans les cerveaux de rats soumis à son influence, sans que l'augmentation des doses ait un effet très marqué à partir d'un certain seuil (Tableau XLII).

	Doses (mg/kg)	Nombre d'animaux	Taux de Noradréna- line (μ g/g. de cer- veau) $\pm$ E.S.	t. de Student
Témoins		75	0,194 $\pm$ 0,025	
MINA	25	45	0,169 $\pm$ 0,020	8 (1)
MINA	50	45	0,167 $\pm$ 0,025	8 (1)
Résérpine	1 (2)	42	0,118 $\pm$ 0,130	
Pentétrizol	100	30	0,141 $\pm$ 0,120	
MINA Pentétrizol	25 100	30	0,106 $\pm$ 0,020	
MINA Pentétrizol	50 100	30	0,112 $\pm$ 0,01	

Tableau XLII : Effet de la MINA sur les taux cérébraux de noradrénaline.

(1) t. calculé par rapport aux témoins.

(2) Dose administrée 24 heures avant la mesure.

La résérpine manifeste son effet attendu en provoquant une forte déplétion de la noradrénaline. Le Pentétrizol possède un effet important dans le même sens ; mais c'est l'association Pentétrizol-MINA qui donne les chiffres les plus spectaculaires. Il y a donc là un parallélisme très net avec l'augmentation de la symptomatologie et de la mortalité de la crise convulsive induite par l'emploi conjugué des deux drogues et sans doute l'explication de cette potentialisation.

b) Effet de la MINA sur les catécholamines surrénaliennes.

Nous avons refait les dosages précédents, cette fois-ci en évaluant le contenu des surrénales de rats traités par la MINA et soumis, pour des raisons de commodités, au seul électrochoc. Les surrénales ont été prélevées 30 minutes après celui-ci, puis dégraissées et broyées à l'aide d'un broyeur à ultrasons.

La surrénale du rat contient un mélange de noradrénaline et d'adrénaline, la proportion de cette dernière hormone étant en relation avec l'âge de l'animal, et s'élevant avec celui-ci. Nous avons donc procédé au dosage des deux dérivés.

Les résultats (Tableau XLIII) vont dans le même sens que pour le cerveau, et montrent, surtout en association avec l'électrochoc, une déplétion profonde du contenu en catécholamines des surrénales, bien qu'on ne parvienne jamais, d'après Dresse et Gerebtzoff (68), à supprimer totalement la teneur normale en catécholamines de certaines cellules de la médullosurrénale, si l'on en juge par la méthode histochimique employée par ces auteurs.

En réalité pourtant, les chiffres que nous avons obtenus sont surévalués, car nous avons rapporté les quantités de noradrénaline et d'adrénaline trouvées au poids frais de surrénales, ce qui est valable seulement pour les témoins, mais introduit un facteur d'erreur pour les animaux traités par suite de la stase sanguine considérable qui augmente le poids des surrénales d'au moins 25 à 30 %. Le tableau XLIII n'a donc qu'une valeur indicative, (c'est pourquoi nous n'avons pas fait les calculs statistiques habituels sur les chiffres qui y figurent), bien que les variations observées soient suffisamment importantes pour confirmer les résultats précédents.

Nous avons doublé d'ailleurs ces dosages en utilisant, comme Dresse et Gerebtzoff, une méthode histochimique pour objectiver visuellement l'action de la MINA. La technique employée est celle d'Eranko (74, 75) qui met en évidence les catécholamines par la fluorescence émise en UV par les produits de condensation

Formol-Catécholamines. Les résultats (Figure 59) confirment bien les dosages chimiques et montrent une nette diminution du nombre et de la taille des îlots fluorescents sous l'influence de la MINA et ici du pentétrazol, et leur déplétion profonde, (mais sans disparition totale) avec l'association de ces deux drogues. On remarquera sur les coupes faites après MINA + Pentétrazol l'engorgement des capillaires sanguins qui traduisent la stase dont nous avons parlé précédemment.

Ces essais, tout en confirmant le blocage de la synthèse des catécholamines provoqué par la MINA, montrent bien que cette drogue n'est pas capable, à elle seule, de supprimer totalement le contenu surrénalien : ce qui signifie que la sécrétion physiologique des catécholamines est loin d'épuiser les réserves en hormones surrénaliennes. Musacchio et coll. (161) ont fait les mêmes observations avec le disulfiram, également inhibiteur de la synthèse de la noradrénaline, et ont conclu que le turn-over de l'hydroxylation de la dopamine devait être très rapide. Il est donc nécessaire, pour obtenir une baisse importante des taux de catécholamines, de conjuguer une inhibition de la synthèse de ces médiateurs avec une chasse provoquée par exemple par les stimulations énergiques dues aux crises convulsives, qui vident les réserves cellulaires, lesquelles n'avaient pas été touchées par la MINA, contrairement à ce qui se passe avec la réserpine, ce qui explique alors l'apparition d'un état comateux spécial chez les animaux traités.

...

	Nombre d'animaux	Adrénaline (en $\mu\text{g/g.}$ de surrénale)	Noradrénaline
Témoins	15	1260	350
MINA 50 mg/kg (1)	10	1190	187
Electrochoc supramaximal (2)	10	790	230
Electrochoc supramaximal + MINA 50 mg/kg (3)	10	600	75

Tableau XLIII : Effet de la MINA sur le contenu en adrénaline et noradrénaline de surrénales de rats, et effet conjugué de l'électrochoc

- (1) : Administration de la MINA 10 min. avant le sacrifice des animaux.
- (2) : Administration de l'électrochoc 30 minutes avant le sacrifice des animaux.
- (3) : Administration de la MINA 10 minutes avant l'électrochoc puis sacrifice 30 minutes après celui-ci.

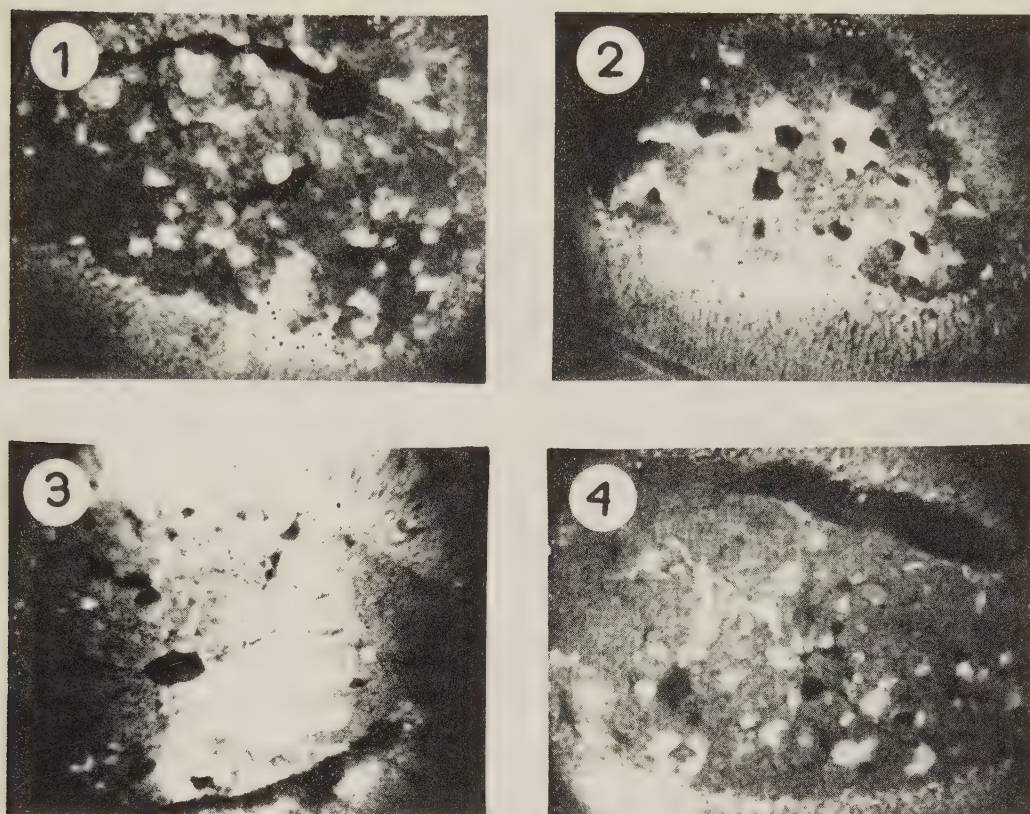


Figure 59 : Effet de la MINA sur le contenu en catécholamines de la surrénale de rat, mises en évidence par la technique d'Eränkö.

- 1 : Surrénale normale.
- 2 : 30 minutes après administration de 50 mg/kg de MINA I.P.
- 3 : 15 minutes après 75 mg/kg de Pentétrazol.
- 4 : 15 minutes après 75 mg/kg de Pentétrazol, lui-même administré 15 minutes après la MINA.

Noter la diminution de la taille et de la fluorescence des flots, ainsi que la stase sanguine.

3 - Action de la MINA sur la dopamine.

Actuellement la dopamine ne fait plus seulement figure de précurseur chimique dans la biosynthèse de la noradrénaline, mais semble jouer un rôle de transmetteur propre (Carlson, 42, Bertler, 15, Sourkes, 187, Vogt, 199). Une importance majeure de l'effet de ce médiateur dans les crises épileptiques a été défendue par de Schaepdryver et coll. (183) et par Heymans et de Schaepdryver (116) comme nous l'avons dit.

Nous avons donc été amené à rechercher une influence possible de la MINA sur le taux cérébral de dopamine. Nous avons utilisé pour cela une méthode mise au point par Revol (171) et qui est une application de la technique d'extraction des catécholamines décrite par Shore (185). Pour chaque série de rats témoins ou traités, nous avons déterminé un blanc de fluorescence et contrôlé le taux d'extraction, voisin de 85 %. Nous avons employé le protocole suivant : les cerveaux de 6 rats sont recueillis dans un flacon contenant 15 ml de HCl 0,01 N et préalablement taré ; après les avoir pesés, ces cerveaux sont broyés et homogénéisés grâce à un appareil à ultrason "UltraTurax", puis répartis en 4 tubes par fractions de 4,5 g. A chaque fraction, on ajoute 0,5 ml de tampon phosphate (0,5 M, pH 6,9), 6g. de ClNa pur et 30 ml de Butanol purifié (purification arrêtée après trois lavages à l'eau distillée) ; après avoir agité une heure et centrifugé, 20 ml d'extract butanolique sont repris, puis additionnés de 30 ml d'heptane et de 2,5 ml d'HCl 0,1 N. Après une agitation de 10 minutes et une nouvelle centrifugation, 2 ml d'extract chlorydrique sont prélevés.

Le dosage fluorométrique de la dopamine est effectué sur cet extrait dont le pH a été préalablement ramené à 6,5 à l'aide d'une solution de carbonate de potassium N, et dont le volume est complété à 4 ml par addition d'un ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6,5) et d'une quantité d'eau convenable. La dopamine est dosée, après oxydation par l'iode, sous forme de 5-6 di Hydroxy Indol, dont les pic d'excitation et de fluorescence sont respectivement situés à 345 mμ et 410 mμ, d'après Udenfried (196).

	Dose (mg/kg)	Nombre d'animaux	Taux de Dopamine (μ g/g. de cerveau) $\pm$ E.S.	t. de Student
Témoins		40	0,93 $\pm$ 0,04	
MINA	25	40	1,20 $\pm$ 0,05	3 (1)
Réserpine	1 (3)	15	0,69 $\pm$ 0,04	2,4 (1)
Pentétrazol	100	28	0,98 $\pm$ 0,04	0,6 (1)
Pentétrazol MINA	100 25	30	1,47 $\pm$ 0,055	10 (1) 2,6 (2)

Tableau XLIV : Effet de la MINA sur le taux cérébral de dopamine.

(1) t. calculé par rapport aux témoins.

(2) t. calculé par rapport à la MINA.

(3) Dose administrée 24 heures avant la mesure.

Mais les dosages effectués selon cette technique, et avec le même protocole expérimental que pour la noradrénaline, c'est-à-dire en comparaison avec la réserpine et le pentétrazol, et en potentialisant l'effet de ce dernier par la MINA, ne nous ont pas montré de diminution des taux cérébraux de dopamine (Tableau XLIV), contrairement à ce que fait la réserpine qui, elle, provoque un très net abaissement de ce médiateur. Au contraire, la MINA provoque une augmentation significative de la quantité retrouvée de dopamine. Cette élévation est encore plus nette en cas d'utilisation conjuguée de MINA et de pentétrazol ; ce phénomène est donc l'inverse de ce qui se produit avec la noradrénaline, où l'association MINA-convulsivant se traduit par un déficit accru de noradrénaline. On

...

peut voir là une indication de l'existence d'un mécanisme régulateur de la synthèse de la noradrénaline, qui augmente le rendement des premiers stades si la consommation finale du médiateur est anormalement accrue. Cette explication nous semble plus juste que celle qui consiste à conclure que seule la non-consommation de la dopamine, à la suite d'un blocage de la transformation de celle-ci en noradrénaline, est suffisante pour expliquer l'élévation des quantités retrouvées, car alors il n'y aurait aucune raison pour que, après pentétrazol, on retrouve plus de dopamine qu'après MINA seule.

Quoi qu'il en soit, la MINA agit essentiellement au niveau de la transformation de la dopamine en noradrénaline. Si on considère en effet la chaîne biochimique aboutissant à la synthèse de la noradrénaline (figure 50) on constate immédiatement que le seul stade possible pouvant expliquer à la fois une diminution de la synthèse de la noradrénaline, et une augmentation des taux de dopamine, se situe au niveau de l'hydroxylation de cette dernière, et qu'une inhibition de l'enzyme responsable de cette transformation, la dopamine β hydroxylase rendrait parfaitement compte des phénomènes constatés, et en tous cas le blocage de la transformation de la dopamine en noradrénaline est la seule explication logique de nos résultats, même si la MINA n'est pas un inhibiteur direct de la Dopamine β Hydroxylase.

La possibilité, au moins théorique, d'expliquer l'abaissement du taux de noradrénaline par une augmentation d'activité de la Mono-Amine-Oxydase (qui agit également au niveau de la Dopamine) ne peut être retenue, car elle ne saurait rendre compte de l'augmentation des taux de dopamine chez les animaux traités par la MINA. Il faudrait en effet admettre une dissociation du mécanisme activateur au niveau noradrénaline et au niveau dopamine, ce qui est invraisemblable.

...

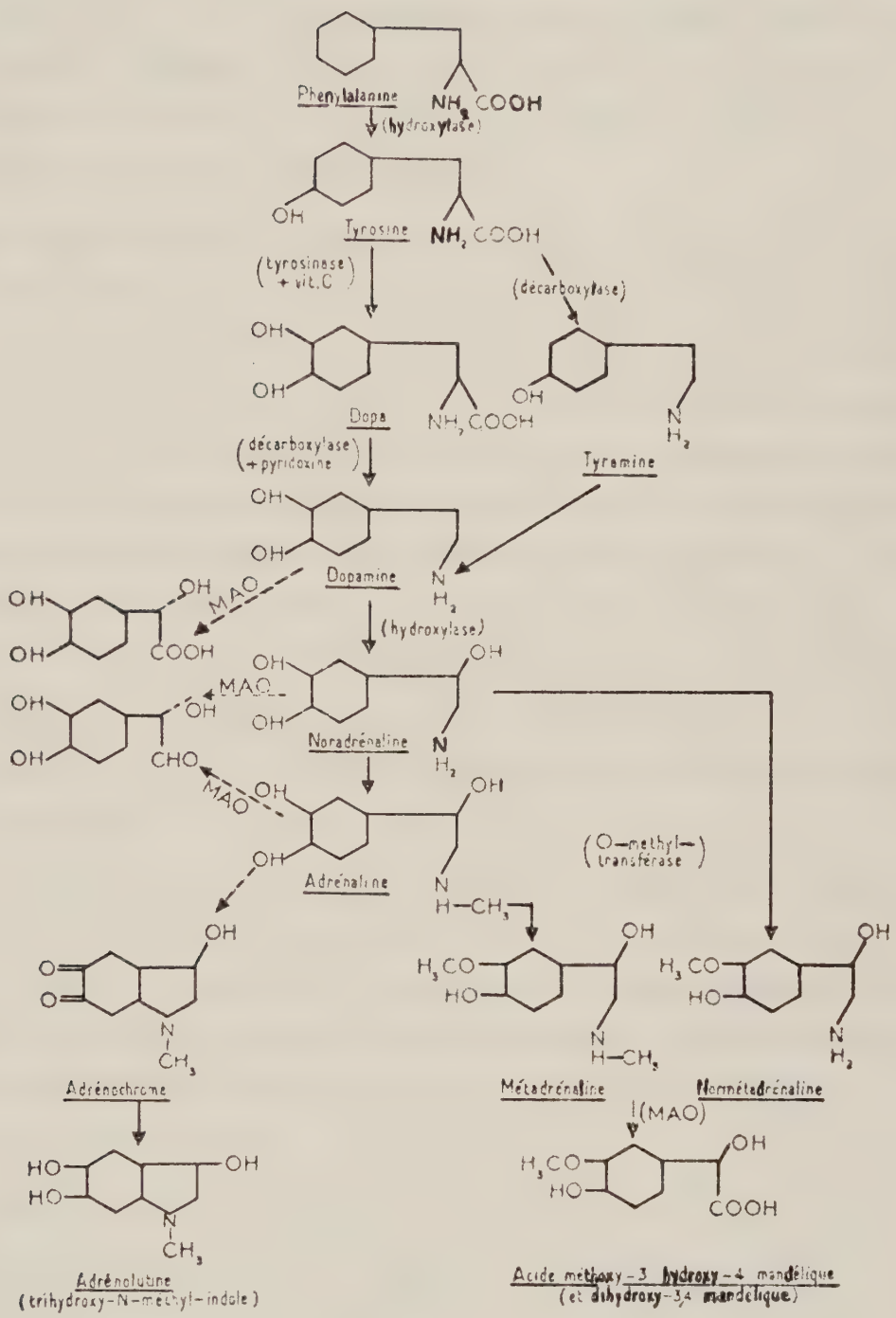


Figure 60 : Métabolisme des catécholamines

(Emprunté à Bastide et Dastugue, 10)

La Dopamine β Hydroxylase

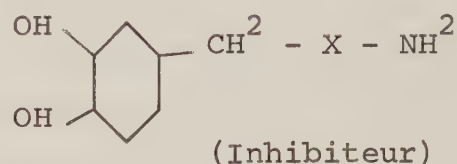
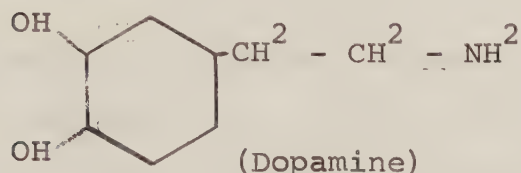
L'enzyme responsable de la transformation de la dopamine en noradrénaline est à l'heure actuelle bien connue sous un certain nombre de ses aspects. Une mise au point de la question a été publiée par Kaufmann et Friedman (131) dans un article auquel nous empruntons les précisions suivantes :

On sait depuis Kirschner (133) que la dopamine β hydroxylase est intimement associée aux fractions cellulaires granulaires isolées par Blaschko (18) du tissu surrénal, et distinctes des mitochondries. Ces granules contiennent des catécholamines en grande quantité, et semblent être le siège de la biosynthèse de ces médiateurs. La dopamine β hydroxylase peut en être extraite par une technique appropriée. De nombreuses propriétés de l'enzyme in vivo peuvent être expliquées par cette localisation intraparticulaire : le fait que l'EDTA ou la réserpine soient capables d'inhiber l'enzyme purifiée, mais n'aient pas d'action in vivo pourrait s'expliquer par l'impossibilité pour ces deux corps de franchir la barrière granulaire.

La Dopamine β hydroxylase nécessite pour son fonctionnement de l'oxygène, de l'ATP et des ions Mg^{++} . Ces derniers auraient d'ailleurs deux rôles : ils seraient nécessaires pour la biosynthèse de la noradrénaline, mais aussi pour sa libération à partir des granules, d'après Carlson et coll., et Kirschner, (in Kaufmann et Friedmann, 131).

D'autre part, la dopamine β hydroxylase serait une enzyme du type des hydroxylases aérobies (classées par Mason, (154) comme des oxydases à fonction mixte). Elle nécessite pour son fonctionnement de l'oxygène dérivant de l'oxygène atmosphérique, et la présence d'un donneur d'électrons. Ce dernier pourrait être d'après Levin, Levenberg et Kaufmann (in Kaufmann et Friedmann, 131) une molécule d'ascorbate. Mais pour des raisons encore obscures l'enzyme est activé aussi par l' α céfoglutarate, et plus encore par le fumarate.

Un certain nombre de corps peuvent inhiber la dopamine- β hydroxylase. Ces inhibiteurs sont de deux types : le premier est celui des inhibiteurs spécifiques, qui sont des analogues structuraux de la dopamine, résultant d'une substitution d'un carbone de la chaîne latérale par un atome d'oxygène ou d'azote.



Ces produits sont des inhibiteurs puissants in vitro de la dopamine β hydroxylase, et l'un des plus actifs semble être la p-hydroxybenzyl-oxyamine. Mais ils ne sont pas capables in vivo d'abaisser le taux des catécholamines.

Le deuxième type est celui des agents chélatants. On sait en effet que la dopamine β hydroxylase est une enzyme contenant du cuivre. Friedmann et Kaufmann (90) travaillant sur une préparation pure, ont montré que la concentration en cuivre est de 4 à 7 moles de cuivre par mole de protéine. Ce métal peut être enlevé par traitement au cyanure de potassium concentré. L'enzyme est alors inactif, mais il peut être réactivé, au moins partiellement, par restitution du cuivre. En dehors du cyanure, le cuivre peut être complexé dans la dopamine β hydroxylase, au moins in vitro, par le diéthyl-dithiocarbamate, la diméthyl-o-phénantroline l'EDTA, les tropolones (Goldstein et coll., 102), enfin par le disulfiram (antabus). Ce dernier produit agit bien in vivo, d'après Musacchio et coll. (161), et abaisse le contenu en noradrénaline des tissus, alors que celui en dopamine augmente. En fait l'inhibiteur réel semble bien être, non pas le disulfiram lui-même (qui n'est pas un agent chélatant), mais le diéthyl-dithiocarbamate qui est son métabolite (Goldstein et coll., 101). Les taux d'abaissement des différents tissus en noradrénaline sont variables après traitement par le disulfiram ; il semble que plus le "turn-over" de la noradrénaline dans un organe est rapide et plus la déplétion

provoquée par l'inhibiteur est importante ; à cet égard, l'action produite sur le cerveau est particulièrement rapide.

4 - Action de la MINA sur la synthèse de noradrénaline in vitro.

Or, les oximes en général sont des agents capables de complexer un certain nombre de métaux, parmi lesquels le cuivre, d'après Green et Svasti (107). Le cas de la MINA a été spécialement étudié par Roginskaya et Stechekoldina (175), qui font d'ailleurs jouer aux complexes métalliques possibles de la MINA un rôle dans le pouvoir réactivateur de cette oxime.

Il existe donc une possibilité d'expliquer une inhibition de la MINA sur la Dopamine β Hydroxylase par ce mécanisme de complexation du cuivre de l'enzyme, à l'image des autres inhibiteurs par chélation.

Mais toutefois, nous avons vu que les ions CN ont une action inhibitrice de l'enzyme, bien qu'à concentration élevée (6.10^{-4} M de KCN, d'après Levin et coll., travaillant sur l'enzyme purifiée (142). On retrouve donc encore une fois le problème des interactions pharmacologiques de la MINA et de l'acide cyanhydrique libéré au cours de son métabolisme.

Pour tenter d'éclaircir cette question, et préciser le rôle éventuel des ions cyanures sur cette propriété essentielle de la MINA, nous avons donc travaillé sur une préparation purifiée de granules de surrénales de boeuf, obtenus par la technique de Freidmann et Kaufmann (91) afin de préciser un éventuel blocage de la production de noradrénaline à partir de dopamine, dans des conditions où la libération d'acide cyanhydrique à partir de l'oxime n'a pas lieu. Nous avons utilisé une technique due à J. Revöl (171).

Dans des conditions in vitro, la synthèse de noradrénaline dans les granules ne se fait qu'en présence d'un certain nombre de cofacteurs : acide ascorbique, acide fumarique, ions

...

cuivriques ; il est aussi nécessaire d'ajouter au milieu de la catalase, et d'utiliser un inhibiteur des monoamines oxydases toujours présentes dans les suspensions particulières.

Pour un volume final de 3 ml, nous avons donc utilisé un milieu réactionnel qui contient en micromoles :

ATP..... : 24
 NADPH : 0,7
 Tampon Phosphate pH 6,2 ... : 200
 Acide Ascorbique : 18
 Acide Fumarique : 30
 Dopamine : 0,5
 Chlorure Cuivrique : 0,6
 Catalase : Q.S. pour stimulation maximale.

La suspension particulière représente environ 15 mg de protéine. La réaction se déroule sous agitation à 37 degrés, pendant 60 minutes, la noradrénaline formée au bout de ce temps étant dosée par spectrofluorométrie, par la technique déjà décrite.

Nous avons obtenu, avec des quantités croissantes de MINA, par rapport au milieu réactionnel sans oxime, et en l'absence de cyanures, les inhibitions suivantes :

Concentration de MINA	Pourcentage d'inhibition
10^{-4} M	31,4
2.10^{-4} M	47,7
5.10^{-4} M	54,4
10^{-3}	66,9

Tableau XLV : Action de la MINA sur la production de noradrénaline à partir d'une suspension de granules de surrénales de boeuf in vitro.

Il se confirme donc qu'en l'absence d'acide cyanhydrique, la MINA est capable de diminuer la libération de noradrénaline. Naturellement, cette expérience n'est pas une démonstration directe de l'inhibition de la Dopamine β Hydroxylase par la MINA, puisque, si on utilise comme matériel les particules et non pas l'enzyme purifié, il entre en jeu des questions de pénétration particulières, et qu'il peut s'agir, (comme in vivo d'ailleurs, d'une modification du passage de la dopamine à travers la membrane granulaire. Les résultats globaux des deux mécanismes sont d'ailleurs les mêmes. De plus, si le fait d'une action en soi de la MINA semble bien démontrée sur l'abaissement du taux de noradrénaline, il n'est pas exclu que la libération d'acide cyanhydrique n'agisse pas in vivo en augmentant encore, par le blocage de la dopamine β hydroxylase, la déplétion de la noradrénaline, comme par exemple l'effet des deux drogues paraît bien s'additionner sur la toxicité de la MINA, ou sur l'action de la drogue sur la respiration.

Chapitre XV. Conclusions.

Au terme de cette étude pourtant diversifiée sur le mécanisme d'action de la MINA, il nous apparaît que beaucoup de lacunes subsistent encore dans notre travail. Nous pensons en particulier à l'insuffisance de nos recherches sur l'effet de la MINA dans la respiration cellulaire, et aux nombreux problèmes qui restent en suspend sur cette question et que nous n'avons pu aborder, d'une part parce qu'ils sont du ressort très spécialisé d'une branche de la biochimie dans laquelle nous avons conscience de n'avoir qu'une compétence très insuffisante, et d'autre part parce qu'ils exigent des moyens techniques que nous n'avons pas.

Ce travail sur la MINA nous a en fait entraîné sur des voies insoupçonnables pour nous au départ, et qui se sont révélées d'une complexité élevée, en s'ouvrant sur des disciplines multiples intriquées les unes dans les autres.

En partant donc d'une oxime dont le pouvoir réactivateur était connu, nous avons donc mis en évidence de nombreuses propriétés pharmacologiques, et dans des domaines extrêmement variés ; en fait, la MINA a une action sur presque tous les systèmes physiologiques, ce qui est assez surprenant pour une drogue de structure chimique aussi simple. Ceci montre d'ailleurs qu'il pourrait en être de même avec de nombreuses autres substances, dont on ne connaît qu'un aspect pharmacologique, celui d'une action principale, en négligeant des actions secondaires qui peuvent être en réalité très importantes.

Nous avons tenté de résumer dans le schéma p. 199 les propriétés pharmacologiques de la MINA en même temps que le processus d'investigation que nous avons adopté, et les interactions que nous pensons exister entre les impacts de la MINA sur divers systèmes. Il existe ainsi plusieurs points communs entre des propriétés remarquables de l'oxime, comme l'effet de stimulation respiratoire ou encore l'action neuroleptique, entre lesquels il est difficile de distinguer le plus important.

De nombreuses actions thérapeutiques ainsi révélées sont exploitables, et peut-être ne sont-elles pas toutes mises en évidence. En particulier, nous avons vu que la MINA est une excellente thérapeutique de l'intoxication par les organophosphorés inhibiteurs de cholinestérases -du moins de ceux qui ne présentent pas le phénomène du vieillissement de l'inhibition-. Ce domaine est même celui où les diverses propriétés de l'oxime sont le plus utiles et se complètent le mieux. Il serait donc tentant d'utiliser la MINA dans le traitement humain de ce genre d'intoxication.

Malheureusement, l'introduction dans la pharmacopée humaine de la MINA se heurte à de nombreuses difficultés, la production de l'acide cyanhydrique par la drogue au cours de son métabolisme étant la principale ; toutefois, il faut aussi signaler le fait que l'on peut avoir des surprises désagréables dans la différence des toxicités des oximes sur l'animal et sur l'homme : un exemple en est donné par la DAM, de structure voisine de la MINA, mais moins toxique sur l'animal que cette dernière (elle ne libère pas d'HCN) ; pourtant l'essai sur l'homme de la DAM a donné lieu à de graves mécomptes, comme l'ont montré Jager et Staggs (123) qui ont obtenu des états comateux sur l'homme avec des doses de 30 mg/kg, dose rigoureusement sans action sur les animaux de laboratoire. Il conviendra donc éventuellement d'être d'autant plus prudents lors d'une expertise clinique des effets de la MINA sur l'homme.

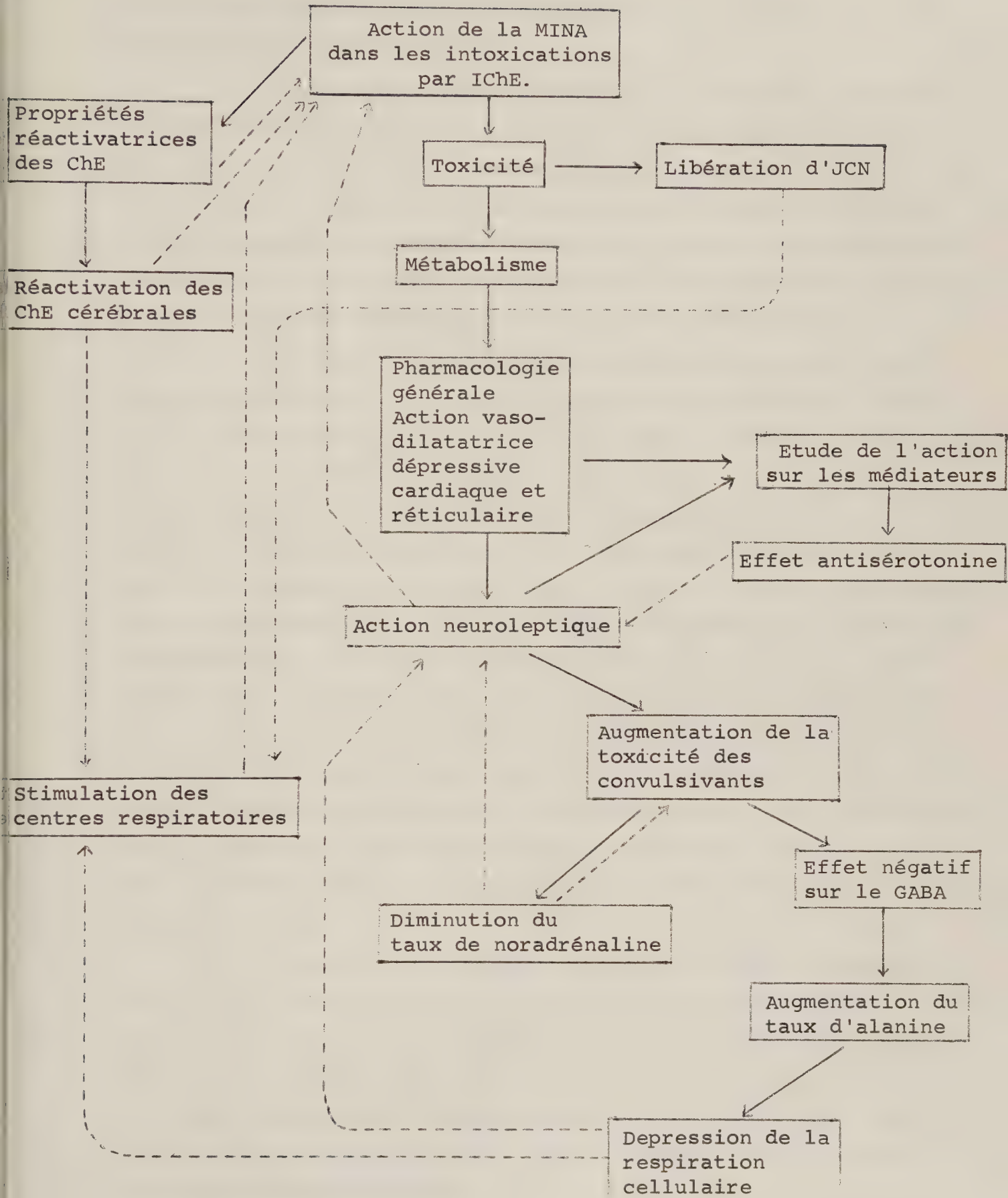
Il y a en effet des arguments de poids en faveur de l'utilisation pratique de la MINA, dans les intoxications par organophosphorés. C'est la seule drogue capable de réactiver les cholinestérases du système nerveux central, avec une efficacité correcte et des conséquences remarquables qui en découlent et que nous avons vues. Bien que certains auteurs pensent qu'il est suffisant de rétablir la fonction des cholinestérases périphériques, ce que l'on peut faire avec les oximes quaternarisées dont nous disposons, P2S, TMB4 ou BH6 et de bloquer à l'aide d'un anticholinergique les manifestations d'hyper-cholinergie, nous croyons en effet que la réactivation des cholinestérases centrales apporte un facteur

irremplaçable de sécurité et d'efficacité dans le traitement : en effet, on peut alors se passer de respiration artificielle, au cours des intoxications graves avec apnée.

Or, ce problème de respiration artificielle est le plus épineux à résoudre dans la pratique, surtout si l'on envisage un conflit où seraient utilisés les toxiques de guerre organophosphorés actuels, dont la puissance est terrifiante, et qui feraient sans doute de nombreuses victimes simultanées, qui devraient donc être traitées massivement : il est, dans ces conditions, impensable que le personnel compétent capable de manier les appareils indispensables de respiration artificielle sous pression, et ces appareils eux-mêmes, soient disponibles de façon efficace. On voit donc tout l'intérêt d'une drogue permettant de résoudre de façon élégante ce problème en le supprimant purement et simplement.

Nous l'avons dit, le principal obstacle à l'utilisation chez l'homme de la MINA est la question de sa toxicité par la production d'acide cyanhydrique, qui effraie de nombreux auteurs et les empêche d'envisager l'administration de l'oxime, pourtant prometteuse par ailleurs. Mais nous avons vu qu'il y a des remèdes à cette libération d'acide cyanhydrique, et qu'on peut diminuer considérablement la toxicité de la MINA en ayant recours à des produits comme l'hyposulfite de sodium ou de magnésium. Aussi, dans les cas où le traitement par la MINA est une question vitale et d'extrême urgence, comme pour la thérapeutique des intoxications par certains organophosphorés où le délai utile est très court, il est certain qu'on peut passer par dessus un inconvénient sérieux, mais non rédibitoire, puisqu'on pourra toujours, après l'action favorable spécifique de la MINA, administrer un traitement complémentaire pour lutter contre les effets nocifs de la subintoxication cyanée.

Nous pensons donc que la MINA est malgré tout utilisable sur l'homme. Mais s'il n'est pas possible de vaincre la répugnance qui se manifeste vis-à-vis de l'utilisation pratique de l'oxime, celle-ci n'en aura pas moins rendu service par les enseignements



qu'elle nous apporte dans la thérapeutique des intoxications par inhibiteurs de cholinestérases.

- Nous avons vu que la MINA met en évidence l'effet heureux de la réactivation des cholinestérases cérébrales. Il conviendrait donc que les efforts des chimistes organiciens se portent sur la synthèse de nouvelles oximes capables de franchir la barrière hématoencéphalique, et que les problèmes relatifs aux questions de passage de celle-ci soient plus étudiées, afin d'arriver en pratique à se passer de la sujétion de la respiration artificielle.

- De plus, les propriétés pharmacologiques de la MINA renforcent l'opinion, qui n'est pourtant pas généralement admise, de l'utilité de l'emploi d'un neuroleptique associé à un réactivateur, et à un anticholinergique. L'utilisation d'une molécule comportant deux de ces propriétés est évidemment idéale. Mais à défaut, on peut en tirer la conclusion que l'utilisation de cocktails adéquats est une bonne solution. Cette formule a le mérite d'être applicable immédiatement, et mise facilement en pratique, à l'aide d'une des oximes dont l'utilisation chez l'homme est codifiée, et d'un neuroleptique d'utilisation banale. Mais la MINA présente un avantage à cause de sa courte durée d'action comme neuroleptique, alors que les phénothiazines dont on peut envisager l'emploi ont un certain nombre d'inconvénients, liés précisément à leur trop longue durée d'action qui tend à renforcer la dépression respiratoire due à l'intoxication, ce qui a été mis en relief par Gaines (94 et Arterberry et coll. (4).

Il serait donc là aussi intéressant, dans l'élaboration d'une formule thérapeutique, de copier l'action de la MINA, en employant un neuroleptique de durée d'action la plus courte possible. Mais il sera probablement difficile de trouver un produit unissant à la fois des propriétés neuroleptiques et de stimulation respiratoire, comme le fait la MINA, dans un exemple rare de dualité d'actions presque opposées.

...

Sur un tout autre plan que le traitement des intoxications par les organophosphorés, la MINA est en effet intéressante par son comportement comme neuroleptique. Elle montre que l'effet neuroleptique est possible d'abord sur une durée très courte, et aussi qu'il peut être provoqué par des drogues de structure chimique très simple, même si le mécanisme d'action n'en est pas sans ambiguïté. Ceci devrait être un encouragement pour la synthèse de nouveaux neuroleptiques, visant particulièrement la courte durée d'action, dont l'utilité est incontestable pour certaines applications -nous pensons en particulier à des neuroleptanalgésies de brève durée-.

Le mécanisme biochimique de l'action de la MINA devrait en effet permettre d'orienter des recherches dans ce sens, car il semble bien que l'effet de l'oxime sur la noradrénaline soit le plus important, et en visant à obtenir un blocage de courte durée de la biosynthèse de ce médiateur, on devrait pouvoir obtenir le résultat souhaité.

Il est intéressant à cet égard de voir qu'un effet sur la seule noradrénaline suffit probablement à être le *primum moven* de l'action neuroleptique de la MINA, sans qu'un autre effet de dépression intervienne sur les autres médiateurs tels que la sérotonine et la dopamine, alors que pratiquement tous les autres neuroleptiques ont, vis-à-vis de ces médiateurs, une action beaucoup plus complexe. Il est également de grande importance théorique de voir que la seule déplétion de noradrénaline joue un rôle dans l'augmentation de la toxicité des convulsivants, pour comprendre le mécanisme d'action de ces derniers. Sans exclure l'intervention à d'autres niveaux (dans un sens inhibiteur ou stimulant d'ailleurs) de la dopamine ou de la sérotonine, on est bien forcé d'admettre que la diminution du taux de la seule noradrénaline est une condition suffisante pour augmenter l'effet des convulsivants. La MINA devient donc un outil pour permettre des recherches plus poussées sur le fonctionnement des mécanismes de base des structures neuroniques. Il serait sans doute, en fait, utile de reprendre avec

d'autres inhibiteurs de la dopamine β hydroxylase l'étude de la déplétion pure de la noradrénaline et de ses résultats pharmacologiques, et d'en comparer les résultats avec les nôtres.

Mais il y a un autre enseignement qu'on peut tirer de l'action de la MINA comme neuroleptique, c'est que ces produits ne sont pas nécessairement des dépresseurs respiratoires, et que les deux mécanismes ne sont pas obligatoirement liés, ce qui peut être particulièrement important en neuroleptanalgie. Il est pour l'instant difficile de demander l'emploi de la MINA pour des neuroleptanalgies chez l'homme, mais la drogue est très utile pour des interventions animales quand on souhaite ne pas avoir une abolition totale de la réflexivité, pour des applications neurophysiologiques par exemple.

Et nous espérons bien que dans l'avenir, on pourra faire de même, c'est-à-dire obtenir une neuroleptanalgie de courte durée, sans dépression respiratoire, grâce à des drogues ayant les mêmes propriétés que la MINA sans en avoir les inconvénients.

On peut donc se demander quel est finalement l'avenir d'une oxime dont personne ne s'occupe plus beaucoup maintenant, et qui a eu son heure de gloire comme réactivateur vers 1958-60, à l'époque où nous avons commencé cette étude, et où l'on relève le plus grand nombre de publications relatives à l'effet sur les cholinestérases inhibées, mais dont les autres propriétés n'ont pas été explorées. A l'heure actuelle, la MINA n'est plus employée que pour des études de réactivation in vitro, après la découverte de la libération d'acide cyanhydrique qui a freiné toutes autres utilisations in vivo. En fait, l'intérêt thérapeutique de la MINA en a été escamoté, précisément parce que les propriétés utiles de cette oxime, en dehors de l'action réactivatrice, ont été négligées.

Bien que persuadés de la haute valeur, comme thérapeutique de l'intoxication par les organophosphorés, de la MINA, nous n'espérons guère en fait remonter le courant et voir cette drogue employée chez l'homme. Peut-être cela vaut-il mieux d'ailleurs, si

l'on songe que les propriétés remarquables de la MINA trouveraient le mieux leur emploi et auraient leur plénitude d'application dans le cadre d'une guerre chimique.

Mais nous pensons que la MINA est de toute façon utile comme réactif pharmacologique et biochimique, susceptible d'applications de laboratoire. En réalité, ce seul rôle d'instrument supplémentaire dans l'étude du métabolisme cérébral en particulier, justifie amplement notre travail, et fait de la MINA un produit utile pour le travail scientifique, à défaut d'en faire une thérapeutique miracle.

Résumé.

- Après une description des propriétés physiques et chimiques de la Mono-Iso-Nitroso-Acétone, (MINA), réactivateur de cholinestérase non pyridinique, les principales méthodes de synthèse qui permettent sa fabrication sont passées en revue. On décrit une technique efficace de conservation.

- Les différents travaux consacrés à la MINA dans le traitement des intoxications par organophosphorés sont analysés ; puis à la suite d'une étude personnelle expérimentale sur ce sujet, l'action spéciale de la MINA est analysée ; l'oxime est capable de franchir la barrière hématoencéphalique et de réactiver les cholinestérases cérébrales, mais elle a en plus un effet très favorable sur les centres respiratoires et sur les troubles centraux provoqués par les inhibiteurs de cholinestérase, ce qui en assure l'efficacité et justifie l'étude des propriétés pharmacologiques complètes.

- La toxicité de la MINA est mesurée sur diverses espèces animales. La nature de cette toxicité est étudiée : pour une part, elle provient de la libération d'acide cyanhydrique qui se produit au cours du métabolisme de l'oxime. Les quantités d'HCN libérées par des doses données de MINA ont été mesurées : on peut en conclure qu'un autre phénomène intervient dans la toxicité de la MINA. On met en évidence le fait que la production d'acide cyanhydrique à partir de la MINA ne se fait que dans les globules rouges. L'hypo-sulfite de sodium est capable d'atténuer considérablement la toxicité de la MINA.

- Le métabolisme de la MINA a été étudié. L'élimination urinaire et biliaire en est très faible, et l'oxime semble détruite surtout au niveau du foie. Sa rapidité de résorption après injection parentérale, et sa diffusibilité très grande sont mises en évidence.

- La MINA n'a pas d'effet anticholinergique, ni antiadrénalique. Toutefois, dans certains cas, elle peut bloquer les effets de la stimulation du système orthosympathique. Elle n'est pas antihistaminique ; mais par contre elle montre un antagonisme net vis-à-vis de la sérotonine.

- La MINA est douée d'une action antinicotinique sur les effets vasculaires de cet alcaloïde ; pourtant elle est sans effet sur la toxicité de la nicotine ; elle n'est pas non plus ganglioplégique. L'hypotension caractéristique de la MINA est due pour une part à une dépression du tonus vaso-moteur, d'origine centrale, et pour une autre à un effet vasodilatateur direct sur la musculature lisse vasculaire.

- La MINA est un dépresseur cardiaque, par action directe cellulaire, sans intervention de l'acide cyanhydrique libéré.

- Sur les fibres musculaires striées, la MINA n'a pas d'action propre. Elle possède toutefois un effet décurarisant léger vis-à-vis de la d-tubocurarine. Sur les fibres lisses, elle est généralement dépressive.

- La MINA possède sur le système nerveux central une action de type neuroleptique, mais de courte durée. Elle potentialise considérablement l'effet des analgésiques, en produisant une véritable neuroleptanalgie.

- Toutefois, la MINA possède vis-à-vis des centres respiratoires un net pouvoir stimulant, même après dépression par les barbituriques et la morphine. Il s'agit d'une action directe sur les centres respiratoires qui n'est pas totalement en rapport avec la libération d'acide cyanhydrique.

- La MINA augmente la symptomatologie et la toxicité des convulsivants. Cet effet ne semble pas en rapport avec une modification du chimisme du GABA, mais il est plutôt en rapport avec les catécholamines cérébrales.

- Sur le système nerveux central, la MINA agit comme un dépresseur à tous les niveaux, mais avec cependant une prépondérance sur le système réticulé. La MINA est capable de modifier la morphologie des corps de Nissl des motoneurones médullaires en particulier.

- La recherche de l'effet de la MINA sur le GABA a montré que l'oxime provoquait une augmentation importante du taux d'alanine dans le cerveau des animaux soumis à son action. Cette alanine provient en fait d'une déviation du métabolisme de l'acide pyruvique, et en définitive d'une altération du métabolisme glucidique.

La MINA diminue de ce fait la respiration cellulaire. Son point d'action se situe au niveau de l'entrée dans le cycle de Krebs des restes acétyl provenant de l'acétylCoenzyme A. La MINA semble capable de bloquer ce transfert par un mécanisme de compétition.

- La MINA n'a pas d'action sur le taux de sérotonine cérébral. Par contre, elle diminue considérablement celui de la noradrénaline, dans le cerveau et les surrénales, tout en augmentant le taux de dopamine. Cet effet semble à la base de l'action neuroleptique de la MINA, et aussi de son effet de potentialisation de la toxicité des convulsivants. La MINA agit au niveau de la dopamine β hydroxylase ; elle est capable de bloquer in vitro la biosynthèse de la noradrénaline à partir des granules intracellulaires de la surrénale. Il s'agit encore d'une propriété spécifique de la MINA, qui n'a rien à voir avec l'acide cyanhydrique.

- Les possibilités d'emploi de la MINA comme thérapeutique des intoxications par organophosphorés chez l'homme sont discutées ; on pourrait l'envisager dans les traitements d'extrême urgence ; mais la MINA est de toute façon un réactif pharmacologique intéressant.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - AMMON R., VOSS G., Pflügers Arch. Gen. Physiol., 1935, 235, 393-400.
- 2 - d'Amour F.E., SMITH D.L., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1941, 72, 74-79.
- 3 - ANDERSON E.G., MARKOWITZ S.D., BONNYCASTLE K., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1962, 136, 179-182.
- 4 - ARTERBERRY J.D., BONIFACI R.W., NASH E.W., QUINBY G.E., J.A.M.A. 1962, 182, 848-850.
- 5 - ASKEW B.M., DAVIES D.R., GREEN A.L., HOLMES R., Brit. J. Pharmacol., 1956, 11, 417-423 et 424-427.
- 6 - ASKEW B.M., Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 340-343.
- 7 - ASKEW B.M., DAVIES D.R., GREEN A.L., Biochem. J., 1957, 66, 43p-44p.
- 8 - BALZER H., HOLTZ P., PALM D., Biochem. Pharmacol. GB, 1960, 5, 169-171.
- 9 - BALZER H., HOLTZ P., PALM D., Experientia (Suisse), 1961, 17, 38-40
- 10 - BASTIDE P., DASTUGUE G., Produits et Problèmes Pharmaceutiques, 1964, 19, 296-313.
- 11 - BAXTER C.F., ROBERTS E., in : Symposium sur : "Inhibition in the nervous System and Amino-Butyric Acid". 1960, 358-364, Pergamon Press.
- 12 - BAXTER C.F., ROBERTS E., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1960, 104, 426-427.
- 13 - BENOIT P., Mémoire de DES Université de Paris Centre d'Orsay, 1962
- 14 - BENOIT P.H., C.R. Soc. Bio., 1962, 156, 1465-1466.
- 15 - BERTLER A., 2nd Int. Pharmacol. Meeting Prague, 1963, II, 51-55, Pergamon Press.
- 16 - BHATTACHARYA B.K., DELAUNOIS A.L., Arch. Int. Pharmacodyn., 1955, 101, 495-501.

...

- 17 - BINET L., BURSTEIN M., Presse Médicale, 1949, 33, 445-446.
- 18 - BLASCHKO H., WELCH A.D., Arch. Exp. Path. Pharmacol., 1963, 219, 17-22.
- 19 - BLOM J., Ber. Deutsch. Chem. Geselsch., 1926, 59, 121-125.
- 20 - BOGDANSKI D.F., PLETSCHER A., BRODIE B.B., UDENFRIED S., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1956, 117, 82-88.
- 21 - BOISSIER J.R., TARDY J., DIVERRES J.C., Medicina Experimentalis, 1960, 3, 81-84.
- 22 - BOISSIER J.R., SIMON P., Therapie, 1963, 18, 1257-1277.
- 23 - BOISSIER J.R., SIMON P., Encéphale, 1964, 53, 109-122.
- 24 - BOISSIER J.R., SIMON P., Therapie, 1966, 21, 799-818.
- 25 - BOISSIER J.R., Actualités Pharmacologiques 12e série s-69, Masson, 1969.
- 26 - BOISSIER J.R., Pharmacology of Conditioning, Learning and Retention. 2nd Int. Pharmacol. Meeting, Prague, 1963. Pergamon.
- 27 - BONNYCASTLE D.D., GIARMANN N.J., PAASONEN M.K., Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 228-231.
- 28 - BOSKOVIC B., STERN P., Arch. Hig. Rada. Toksskol. Jugosl., 1963, 14, 171-179.
- 29 - BOURILLET F., Thèse de Doctorat en Pharmacie, Paris, 1959.
- 30 - BOXER G.E., RICKARDS J.C., Arch. Biochem., 1951, 30, 372-381.
- 31 - BRATTON A.C., MARSHALL E.K., BABBIT D., HENDRICKSON A.R., J. Biol. Chem., 1939, 128, 537-550.
- 32 - BRAUNSTEIN A.E., KRITZMAN M.G., Enzymologia, 1937, 2, 129.
- 33 - BRAUNSTEIN A.E., KRITZMAN M.G., Biokhimiya, 1937, 2; 859-874.
- 34 - BRAUNSTEIN A.E., KRITZMAN M.G., Nature, 1937, 140, 503-504.
- 35 - BREITNER C., PICCHIONI A., CHIN L., BURTON L.E., Diseases of Nervous System, 1961, 22, (Suppl.) 93-96.
- 36 - BREMER F., STOUPEL N., J. Physiol. Fr., 1956, 48, 410-411.

- 37 - BREMER F., STOUPEL N., Arch. Int. Physiol., 1956, 64, 234-250.
- 38 - BREMER F., Physiological Review, 1958, 38, 357-388.
- 39 - BROWN G.L., PASCOE J.E., J. Physiol. (GB), 1952, 188, 113-123.
- 40 - BULBRING E., Brit. J. Pharmacol., 1946, 1, 38-61.
- 41 - de CANDOLLE C.A., DOUGLAS W.L., LOVATT-EVANS C., HOLMES R.,
SPENCER E.V., TORRANCE R.W., WILSON M.K.;
Brit. J. Pharmacol., 1953, 8, 466-474.
- 42 - CARLSON A., Acta Neuroveget. Austria, 1964, 26, 484-493.
- 43 - CARLSON A., Final Scient. Report, 1965, (Grant A.F. EOA R6430)
Goteborg Univ.
- 44 - CHAIN E.B., Exposés Annuels de Biochimie Médicale 17, Série 29-
56, Masson, 1964.
- 45 - CHANCE M.R.A., J. Pharmacol. Expt. Therap., 1946, 87, 214-219
1947, 89, 289-296.
- 46 - CHARY R., BOCQUET P., JAYOT R., C.R. Soc. Biol., 1957, 151,
2099-2101.
- 47 - CHEN G., ENSOR C.R., BOHNER B., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.,
1954, 86, 507-510.
- 48 - CHEYMOL J., Actualités Pharmacologiques 2e Série, 1-55, Masson,
1950.
- 49 - CHEYMOL J., Actualités Pharmacologiques 7e Série, 35-71, Masson,
1954.
- 50 - CHEYMOL J., BOURILLET F., Actualités Pharmacologiques 13e Série,
63-107, Masson, 1960.
- 51 - CHILD A.F., DAVIES D.R., GREEN A.L., RUTLAND J.P., Brit. J.
Pharmacol., 1955, 10, 462-465.
- 52 - CHRISTEN P.J., COHEN E.M., Acta Physiol. Pharmacol. Neerland,
1965, 13, 1-2.
- 53 - CLAISEN L., Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch., 1887, 20, 252.
- 54 - COHEN E.M., WIERSINGA H., Acta Physiol. Pharmacol. Neerland,
1960, 9, 276-302.

- 55 - COLEMAN I.W., LITTLE P.E., GRANT G.A., *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1960, 38, 667-721.
- 56 - CONWAY E.J., *Microdiffusion Analysis and Volumetric Errors*, 1957, Crossby-Lockwood and Sons, Londres.
- 57 - CORABOEUF E., *J. Physiol. (Fr)*, 1960, 52, 323-417.
- 58 - CORABOEUF E., *Actualités Neurophysiologiques*, 1ère Série, 233-251, Mason, 1959.
- 59 - CORAOR G.R., US Patent n° 2731499, déposé le 5 février 1954.
- 60 - COURVOISIER S., DUCROT R., JULOU L., *Psychotropic Drugs*, 373-391, Elsevier, 1957.
- 61 - DAKIN H.D., DUDLEY H.W., in : FRIEDMAN T.E., *Methods in Enzymology*, Vol. III, 414-418, Academic Press, 1957.
- 62 - DAT-XYONG N., DUCHENE-MARULLAZ P., VACHER J., BUU-HOI N.P., *Med. Exper., Suisse*, 1964, 11, 137-145.
- 63 - DAVIES D.R., GREEN A.L., *Biochem. J.*, 1956, 63, 529-535.
- 64 - DAVIS P.W., *Thèse Université de Michigan*, 1966.
- 65 - DECSI L., *Psychopharmacologia*, 1961, 2, 224-242.
- 66 - DELGA J., FOULHOUX P., *C.R. Soc. Biol.*, 1963, 157, 54-58.
- 67 - DELLA BELLA D., ROGNONI F., VILLANI R., *Arch. Ital. Scienze*
- 68 - DRESSE A., GEREBTZOFF M.A., *C.R. Soc. Biol.*, 1960, 154, 869-872.
- 69 - DULTZ L., EPSTEIN M.A., FREEMAN G., GRAY E.H., WEIL W.B., *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1957, 119, 522-531.
- 70 - DUMONT S., DELL P., *EEG Clin. Neurophysiol.*, 1960, 12, 769-796.
- 71 - EDERY H., PORATH G., ZAHAVY J., *Tox. Applied Physiol.*, 1966, 9, 341-346.
- 72 - EIDELBERG E., BAXTER C.F., ROBERTS E., SALDIAS C.A., in *Symposium : "Inhibition in the Nervous System and γ Amino-Butyric-Acid"*, 365-370, Pergamon, 1960.
- 73 - EPSTEIN J., *Anal. Chem.*, 1947, 19, 272-274.

- 74 - ERANKO O., RAISANEN L., Endocrinology, 1959, 65, 293-297.
- 75 - ERANKO O., RAISANEN L., J. Histochem. Cytochem., 1961, 9, 54-58.
- 76 - ERDMANN W.D., von CLARMANN M., Deutsch Med. Woch. Schr., 1963, 88, 2201-2205.
- 77 - ERSPAMER V., Rendiconti Scient. Farmitalia, 1954, 1, &-93.
- 78 - von EULER U.S., Actualités Neurophysiologiques, 5e Série, 37-50, Masson, 1964.
- 79 - EVERETT G.M., BLOCKUS L.E., SHEPPERD I.M., Science USA, 1956, 124, 79.
- 80 - Mac EWEN I.M., J. Physiol. (GB), 1956, 131, 678-689.
- 81 - FELDSTEIN M., J. Lab. Clin. Med., 1954, 44, 166-170.
- 82 - FERNANDEZ A., GONZALEZ-QUINTANAS J., RUSSEK M., Am. J. Physiol., 1963, 204, 314-316.
- 83 - FIREMARK H., BARLOW C.F., ROTH L.I., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1964, 145, 252-265.
- 84 - FOSTER M.W. Jr, GAYLES R.F., J.A.M.A., 1955, 159, 1520-1522.
- 85 - FOTINO S., Rev. Sci. Med. Rouman., 1960, 5, 35-39.
- 86 - FOULHOUX P., COQ H., LALLEMAND F., BOCQUET P., Thérapie, 1967, 22, 905-918.
- 87 - FOULHOUX P., Thérapie, 1969, 24, 589-593.
- 88 - FREDRIKSSON T., TIBLING G., Biochem. Pharmacol., 1959, 2, 63-67.
- 89 - FREON P., Ann. Chim. Fr., 1939, 11, 453-618.
- 90 - FRIEDMAN S., KAUFMAN S., J. Biol. Chem., 1965, 240, 552-554.
- 91 - FRIEDMAN S., KAUFMAN S., J. Biol. Chem., 1965, 240, 4763-4773.
- 92 - GABOUREL J.D., Bioch. Pharmacol. (GB), 1961, 5, 283-286.
- 93 - GABOUREL J.D., COMSTOCK J.P., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1962, 137, 122-126.
- 94 - GAINES T.B., Science USA, 1962, 136, 1260-1261.

- 95 - GALAMBOS E., PFEIFFER A.K., *Psychopharmacologia*, 1966, 9, 248-252.
- 96 - GARATINI S., KATO R., VALZELLI L., *Psychiatr. et Neurol.*, 1960, 140, 190-206.
- 97 - GARATINI S., VALZELLI L., *Psychotropic Drugs*, 428-436, Elsevier 1957.
- 98 - GASS L., BOPE F.W., *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1959, 48, 186-189.
- 99 - GHEORGHIU P., SCHWARTZ R., STROESCU V., POPESCU E., *Stud. Cerc. Fiziol. Romin.*, 1962, 7, 361-366.
- 100 - GHEORGHIU P., SCHWARTZ-CIORDARU R., STROESCU V., *Fiziol. Norma. Pathol. Romin.*, 1963, 9, 523-528.
- 101 - GOLDSTEIN M., ANAGNOSTE B., LAUBER E., Mc KERECHAN M.R., *Life Science*, 1964, 3, 763-767.
- 102 - GOLDSTEIN M., LAUBER E., Mc KERECHAN M.R., *Biochem. Pharmacol.*, 1964, 13, 1103-1106.
- 103 - GREEN A.L., YOUNG P.A., GODFREY E.I., *Brit. J. Pharmacol.*, 1951, 6, 572-587.
- 104 - GREEN A.L., SAVILLE B., *J. Biochem. Soc.*, 1956, 3887-3892.
- 105 - GREEN A.L., SMITH H.J., *Biochem. J.*, 1958, 68, 28-35.
- 106 - GREEN A.L., SAINSBURY G.L., SAVILLE B., STANSFIELD M., *J. Chem. Soc.*, 1958, 1583-1587.
- 107 - GREEN R.W., SVASTI M.C.K., *Australian Chem. J.*, 1963, 3, 16.
- 108 - GRISONI R., CANALI G., PACINI L., in : *Neuropsychopharmacology C.R. du 1er Congrès Int. Neuropharmacol.*, Rome, 1959, 584-585, Elsevier.
- 109 - GRUNDFEST H., *Actualités Neurophysiologiques*, 2e Série, 49-84, Masson, 1960.
- 110 - HACKLEY B.E., STEINBERG G.M., LAMB J.C., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, 80, 211-214.
- 111 - HALL C.S., *J. Comp. Psych.*, 1934, 18, 385-403.
- 112 - HALL C.S., *J. Comp. Psych.*, 1936, 22, 345-352.
- 113 - HARRIS G., Mc CULLOCH C., *Am. J. Ophtalmol.*, 1960, 50, 414-419.

- 114 - HAYASHI T., J. Physiol. (GB), 1959, 145, 570-578.
- 115 - HEROLD M., GEORGES G., CAHN J., in : Neuropsychopharmacology, C.R. du 1er Congrès Int. de Neuropharmacologie, Rome, 1959, 324-328, Elsevier.
- 116 - HEYMANS C., de SCHAEPPDRYVER A.F., Actualités Neurophysiologiques, 7e Série, 187-201, Masson.
- 117 - HOBBIGER F., Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 438-446.
- 118 - HOLMES R., ROBBINS E.L., Brit. J. Pharmacol., 1955, 10, 490-495.
- 119 - HUG E., Tratamientos de la Intoxicación Cyanhídrica, El Ateneo Buenos-Ayres.
- 120 - HUKOVIC S., Brit. J. Pharmacol., 1961, 16, 188-194.
- 121 - HYDEN H., HARTELIUS H., Acta Psychiatrica et Neurol., 1948, sup. 40, 1-117.
- 122 - Mc INTOSH F.C., Fed. Proc., 1961, 20, 562-568.
- 123 - JAGER B.V., STAGG C.N., Bull. John Hopkins Hosp., 1968, 102, 203-219.
- 124 - JANSSEN A.J., JAGUENAU A.H.M., SCHELLEKENS K.H.L., Psychopharmacologia, 1960, 1, 389-392.
- 125 - JANSSEN A.J., NIEMEGLERS C.J., SCHELLEKENS K.H.L., Arzneimittel Forschung (Drug Research), 1965, 15, 104-117, Kantor K.G.
- 126 - JASPERS H.H., Actualités Neurophysiologiques, 2e Série, 31-47, Masson, 1967.
- 127 - JORDAN J.W., J.A.M.A., 1952, 149, 1316.
- 128 - KADAN Y.S., Pathol. Fiziol. Eksptl. Terap., 1961, 5, 63-65.
- 129 - KAPLAN N.O., LIPMANN F.J., in NOVELLI G.D., Methods of Biochem. Analysis, II, 189-213.
- 130 - KATSUKI H., KANAYUKI H., YOSHIDA T., KAWANO C., TANAKA S., Anal. Bioch., 1961, 2, 421-440.
- 131 - KAUFMAN S., FRIEDMAN S., Pharmacol. Review, 1965, 17, 71-100.

...

- 132 - KILLAM K.F., DASGUPTA S.R., KILLAM E.K., in Symposium : "Inhibition in the Nervous System and γ Amino-Butyric-Acid", 303-316, Pergamon Press, 1960.
- 133 - KIRSHNER N., J. Biol. Chem., 1957, 226, 821-825.
- 134 - KNOLL J., NODOR K., KNOLL B., HEIDT J., Arch. Int. Pharmacod., 1961, 130, 155-169.
- 135 - KOLHI R.P., KISTOR K., Arch. Int. Pharmacod., 1965, 154, 89-93.
- 136 - KORKES S., Methods in Enzymology, I, 486-490, Academic Press.
- 137 - KUNZE D., HAUSHILD F., Biochem. Pharmacol., 1963, 12, (Suppl.), 104.
- 138 - KURIYAMA T., KAWAY M., MITOMI M., HOSONE H., WATANABE F., Boei Eisi, 1960, 7, 216-219.
- 139 - LAGENDORFF O., Pflugers Arch. Gen. Physiol., 1895, 61, 291.
- 140 - LANG K., Biochem. Zeitschr., 1933, 259, 243-256 et 263, 262-267.
- 141 - LANGSDORF W.P. Jr, NAYLOR M.A., US Patent n° 2709709, déposé le 9 juillet 1953.
- 142 - LEVIN E.Y., LEVENBERG B., KAUFMANN S., J. Biol. Chem., 1960, 235, 2080-2085.
- 143 - LEVY S., Communication personnelle.
- 144 - LONG J.P., SCHUELLER F.W., J. Am. Pharm. Assoc., 1954, 43, 79-86.
- 145 - LONG J.P., Fed. Proc., 1961, 20, 583-586.
- 146 - LONGO V.G., Arch. Int. Pharmacod., 1959, 119, 1-9.
- 147 - LONGO V.G., NACHMANSON D., BOVET D., Arch. Int. Pharmacod., 1960, 123, 282-290.
- 148 - Di MAGGIO G., FELIX W., Boll. Acad. Gioenia Sci. Nat. Catania, 1963, 75, 282-286 et 287-292.
- 149 - MALMEJAC J., NEVERRE G., BIANCHI M., C.R. Soc. Biol., 1957, 151, 556-559.

- 150 - MALMEJAC J., in : "L'Adrénaline et la Noradrénaline dans la régulation des fonctions homéostasiques", Colloques nationaux du CNRS, Lyon, 1957, Edit. CNRS.
- 151 - MAMO J.G., LEOPOLD I.H., Amer. J. Ophtalmo., 1958, 46, 724-731.
- 152 - MARANGONI L., RIBALDONE G., NENZ A., Chim. Indus. (Milan), 1964, 46, 614-629.
- 153 - MARCY R., Prod. Pharm., 1961, 16, 402-424.
- 154 - MASON H.S., Advances in Enzymology, 1959, 17, 79-233.
- 155 - Van der MEER C., WOLTHUIS O.L., Biochem. Pharmacol., 1965, 14, 1299-1312.
- 156 - MEETER E., Acta Physiol. Pharmacol. Neerland., 1960, 9, 413-414.
- 157 - MEYER V., ZUBLIN J., Ber. Deutsch. Chem. Gesell., 1878, 11, 145.
- 158 - MILOSEVIC M.P., ANDJELKOVIC D., Nature (GB), 1966, 210, n° 5032 206.
- 159 - MINZ B., Biologie Médicale, 1959, 48, 577-645.
- 160 - MYERS D.K., Biochem. Biophys. Acta, 1959, 34, 555-557.
- 161 - MUSACCHIO J.M., GOLDSTEIN M., ANAGNOSTE B., POCH J., KOPIN I.J., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1966, 152, 56-61.
- 162 - NELSON P.G., FRANK K., Amer. J. Physiol., 1963, 205, 208-212.
- 163 - PAULET G., L'intoxication cyanhydrique et son traitement, Masson, 1960.
- 164 - PERUZZO L., FORNI R.B., Presse Médicale, 1953, 61, 1463.
- 165 - PLEITSCHER A., Schweiz Med. Wochenschr., 1957, 87, 1532-1534.
- 166 - PURPURA D.P., Int. Review Neurobiol., 1959, 1, 47-163.
- 167 - RAJAPURKAR M.V., KOELLE G.B., SMART P., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1958, 123, 247-253.
- 168 - RAJAPURKAR M.V., PANJWANI M.H., Indian J. Med. Sci., 1961, 15, 650-655.

...

- 169 - RAUH C.E., OSTERBERG A.C., Tox. Applied Pharmacol., 1966, 8,
277 - 285.
- 170 - REITZEL N.L., LONG J.P., Arch. Int. Pharmacod., 1959, 119,
20-30.
- 171 - REVOL J., Communication personnelle.
- 172 - ROBERTS E., in : Symposium "Inhibition in the nervous System
and γ Amino-Butyric Acid", 144-158,
Pergamon, 1960.
- 173 - ROBERTS E., FRANKEL S., HARMAN P.J., Proc. Soc. Exp. Biol.
Med., 1950, 74, 383-387.
- 174 - ROBERTS E., EIDELBERG E., Int. Review Neurobiol., 1960, 2,
279-332.
- 175 - ROGINSKAYA E.V., STCHEKOLDINA V.I., Vosprosy Meditsinskoy
Khimii, URSS, 1966, 12, 373-376.
- 176 - de ROPP R.S., SNEDEKER E.H., Analytical Biochem., 1960, 1,
424-432.
- 177 - RUSCAK M., MACEJOVA E., Physiol. Bohemoslov, 1965, 14, 266-270.
- 178 - RUTLAND J.P., Biochem. J., 1957, 66, 43 p.
- 179 - RUTLAND J.P., Brit. J. Pharmacol., 1958, 13, 399-403.
- 180 - SAVILLE B., Analyst., 1957, 82, 269-274.
- 181 - SAVINI E.C., Brit. J. Pharmacol., 1956, 11, 313-317.
- 182 - SAYERS A., STILLE G., Electro Encephal. Clin. Neurophysiol.,
1969, 27, 87-89.
- 183 - de SCHAEPPDRYVER A.F., PIETTE Y., DELAUNOIS A.L., Arch. Int.
Pharmacod., 1962, 140, 358-367.
- 184 - SCHRADER G., in KOELLE G.B., "Cholinesterases and anticholines-
terases agents", Handbuch der Experimen-
talen Pharmakologie, Springer-Verlag,
Berlin, 1963.
- 185 - SHORE P.A., OLIN J.S., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1958,
122, 295-300.
- 186 - SICEDISON (S.A.), Brevet Belge n° 626071, déposé le 14 décem-
bre 1961.

- 187 - SOURKES T.L., Proc. 2nd Int. Pharmacol. Meeting, Prague, 1963, II, 35-50.
- 188 - STAUDACHER H.L., Artzliche Forschung, 1963, 17, 441-443.
- 189 - STEINBERG G.M., BOLGER J., J. Amer. Pharm. Assoc., 1957, 46, 188-191.
- 190 - STERN P., GASPAROVIC I., 1st Int. Pharmacol. Meeting, Prague, 1961, "Pharmacological Analysis of Central Nervous Action", 149-151, Pergamon Press.
- 191 - TAMELIN L.E., Svenska Kem. Tidskr., 1958, 70, 157-181.
- 192 - THUILLIER J., NAKAJIMA H., Psychotropic Drugs, 136-158, Elsevier, 1957.
- 193 - TOWER D.B., in Symposium : "Inhibition in the Nervous System and γ Amino-Butyric Acid", 562-577, Pergamon Press, 1960.
- 194 - TRUITT E.B., EBERSBERGER E.M., Science USA, 1961, 135, 105-106.
- 195 - TURSKY T., Nature (GB), 1960, 187, 322-323.
- 196 - UDENFRIEND S., Fluorescence Assay in Biology and Medicine, Academic Press, 1962.
- 197 - USHIKUBO K., Nippon Seirigaku Zasshi, 1959, 21, 616-621.
- 198 - Da VANZO J.P., MATTHEWS R.J., WINGERSON F., BARNES M.B., Arch. Int. Pharmacod., 1963, 141, 299-308.
- 199 - VOGT M., Actualités Pharmacologiques, 16e Série, 155-168, Masson, 1963.
- 200 - WAGLEY P.F., Bull. John Hopkins Hosp., 1957, 100, 287-293.
- 201 - WARD A.A., Int. Review Neurobiol., 1961, 3, 137-186.
- 202 - WELSH J.H., Nature (GB), 1954, 173, 955-956.
- 203 - WILLIAMS H.L., BAIN J.A., Int. Review Neurobiol., 1961, 3, 319-348.
- 204 - WILLS J.H., KUNKEL A.M., O'LEARY J.F., OIKEMUS A.H., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 101, 196-197.

- 205 - WILSON I.B., Biochem. Biophys. Acta, 1951, 7, 446-470.
- 206 - WILSON I.B., GINSBURG S., Biochem. Biophys. Acta, 1955, 69,
168-170.
- 207 - WILSON I.B., SONDHEIMER P., Arch. Biochem. Biophys., 1957,
69, 468-474.
- 208 - WILSON I.B., Fed. Proc., 1959, 18, 752-758.
- 209 - WISLICKI L., Arch. Int. Pharmacod., 1960, 129, 1-19.
- 210 - WORTH E.C., BROWN W.L., ELAM C.B., J. Psychol., 1957, 43,
485-487.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Vu et approuvé

Paris, le 13 Avril 19 70.

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Paris

Marc. ZAMANSKY

Vu
et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

Robert MALLET

